

**UFRRJ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DISSERTAÇÃO**

**DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO PREBIÓTICO COM ADIÇÃO DE  
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO**

**PEDRO CAMPINHO BELSITO**

**2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DESENVOLVIMENTO DE REQUEIJÃO PREBIÓTICO COM ADIÇÃO DE  
GALACTOOLIGOSSACARÍDEO**

**PEDRO CAMPINHO BELSITO**

*Sob a Orientação do*  
**Prof. Adriano Gomes da Cruz**

Dissertação submetida como requisito para o grau de **Mestre em ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, na Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

Seropédica, RJ.

Abril

2016

637.14

Belsito, Pedro Campinho, 1988-

B452d

Desenvolvimento de requeijão prebiótico com adição de galactooligosacarídeo / Pedro Campinho Belsito. – 2016.

T

46 f.: il.

Orientador: Adriano Gomes da Cruz.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2016.

Bibliografia: f. 38-46.

1. Laticínios - Processamento - Teses. 2. Alimentos funcionais - Teses. 3. Prebióticos - Teses. 4. Tecnologia de alimentos – Teses. I. Cruz, Adriano Gomes da, 1983- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**PEDRO CAMPINHO BELSITO**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Área de Concentração em Tecnologia de Alimentos.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 12/04/2016

---

Dr. Adriano Gomes da Cruz.  
(IFRJ)  
(Orientador)

---

Ph.D. Carlos Adam Conte Júnior  
(UFF)

---

Dr. José Lucena Barbosa Júnior.  
(UFRRJ)

Esse trabalho é fruto de dedicação e incentivo. Deve ser, portanto, dedicado a quem mais me incentivou. Minha amiga e mãe, Leninha Vilhena.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus pais e avós que custearam e incentivaram meus estudos, à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) pela oportunidade e a vivência junto a uma importante instituição de ensino e pesquisa.

Agradeço, ainda, aos professores do Programa de Pós-Graduação em ciência e Tecnologia de Alimentos – PPGCTA, pela compreensão e paciência, em especial, ao professor e meu orientador Adriano Gomes da Cruz pelo apoio, confiança e amizade.

Aos colegas pelo convívio e amizade, especialmente à Mayla e Camila que se tornaram grandes amigas. Aos demais orientados do professor Adriano pela colaboração e apoio no trabalho.

Ao IFRJ-Maracanã por ceder o laboratório e apoio material para a execução do experimento e ao Núcleo de Apoio a Tecnologia de alimentos (NATA) de São Gonçalo-RJ por fornecer a matéria prima utilizada no trabalho.

Aos técnicos de laboratório e ao amigo Fernando Moraes pelo apoio e companhia. Agradeço também a CAPES pelo auxílio financeiro que foi fundamental na minha formação.

## RESUMO

BELSITO, Pedro Campinho. **Desenvolvimento de Requeijão prebiótico, com adição de galactooligossacarídeo** 2016. 46p. Projeto de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

A suplementação com fibras prebióticas constitui-se uma potencial opção de alimento funcional, dado que um produto com propriedade prebiótica pode ter um impacto positivo na saúde gastrointestinal. O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento do requeijão cremoso adicionado de Galactooligossacarídeo (GOS), avaliando o produto bem como seu efeito nas características físico-químicas, reológicas, ópticas e na aceitação sensorial. Requeijão cremoso foi processado e adicionado de galactooligossacarídeo (0, 1,5% 3,0% 4,0% % p/p, respectivamente) e submetidos a análises físico-químicas (pH, umidade, gordura e proteína), cor instrumental (sistema  $L^*$ , a, b), reologia (curva de fluxo, e ensaios oscilatórios), microestrutura e análise sensorial (teste hedônico com 80 consumidores). Os resultados obtidos mostram que não houve influência significativa dos tratamentos com galactooligossacarídeo nos requeijões nos parâmetros físico-químicos ( $p > 0,05$ ), enquanto com relação as características ópticas a adição do GOS proporcionou maior luminosidade ( $L^*$ ) comparada aos tratamentos adicionados de concentrações crescentes de galactooligossacarídeo assim como o maior índice de brancura (WI). Com relação aos aspectos reológicos foi possível observar que todas as amostras apresentaram comportamento similar, porém o requeijão controle apresentou tendência a maiores valores de tensão de cisalhamento por taxa de deformação e maiores valores de módulo de rigidez e estocagem. Todas as amostras de requeijão apresentaram índices de comportamento ( $n$ ) menores que 1, indicando comportamento pseudoplástico, em que a viscosidade aparente diminuiu com o aumento da taxa de deformação aplicada. Houve aumento do fluxo de queijo nas amostras submetidas ao teste de derretimento. Do ponto de vista microestrutural, a adição de GOS proporcionou uma matriz proteica mais densa e compacta e com o número e tamanho dos glóbulos de gordura diminuídos enquanto que na análise sensorial foram observados resultados melhores em todos os atributos, mostrando potencial opção de alimento funcional para a comercialização.

### **Palavras-chave:**

Alimento funcional, Requeijão Cremoso, Prebióticos, Galactooligossacarídeo (GOS)

## ABSTRACT

BELSITO, Pedro Campinho. **Development of “Requeijão cremoso” cheese prebiotic by addition of galactooligosaccharide.** 2016. 46p. Dissertation (Master in Food Science and Technology). Instituto de Tecnologia, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The aim of this study was to develop a prebiotic “requeijão cremoso” cheese with galactooligosaccharide, evaluating the physicochemical, rheological, optical and microstructural as well as the sensory acceptance of the processed products. The “requeijão cremoso” cheese was processed and added galactooligosaccharide (0, 1.5%, 3.0%, 4.0% w / w%, respectively) and subjected to physical and chemical analysis (pH, moisture, fat and protein), instrumental color (system L\*, a, b), rheology (flow curve, and oscillatory tests), microstructure and sensory analysis (hedonic test with 80 customers). The results show that there was no significant influence of the treatments with galactooligosaccharide in physicochemical parameters ( $p > 0.05$ ) of “requeijões cremosos” cheeses, while regarding the optical characteristics the addition of GOS provided higher brightness (L\*) compared to the added treatments of increasing concentrations of galactooligosaccharide as the highest whiteness index (WI). Regarding the rheological behavior was observed that all samples showed similar behavior, but the “requeijão cremoso” cheese control tended to higher shear stress values for shear rate and higher stiffness and storage modulus values. All samples showed curd behavior index (n) less than 1, indicating pseudoplastic behavior, in which the apparent viscosity decreased with increasing applied shear rate. There was an increase in the flow of cheese samples subjected to melting test. From microstructural point of view, the addition of GOS provided a denser and compact matrix protein and the number and size of fat globules reduced while the sensory analysis showed better results in all attributes in the analysis showing potential functional food option for marketing.

**Keywords:** Functional food, Requeijão Cremoso cheese, Prebiotics, Galactooligosaccharide (GOS).

## Lista de Figuras

Figura 1: Estrutura básica do galactooligossacarídeo.....	16
Figura 2: Exemplos de diferentes estruturas de GOS.....	17
Figura 3: Fluxograma geral de processamento.....	22
Figura 4: Curva de fluxo de escoamento em estado estacionário das amostras de requeijão. .	28
Figura 5: Viscosidade aparente (pa.s) das amostras de requeijão cremoso suplementadas com diferentes níveis de GOS. ....	30
Figura 6: Módulo elástico ( $G'$ ) das amostras de requeijão.....	31
Figura 7: Módulo viscoso ( $G''$ ) das amostras de requeijão.....	31
Figura 8: Tangente do ângulo de fase ( $\tan \delta$ ) das amostras de requeijão.....	32
Figura 9: Módulo complexo ( $G^*$ ) das amostras de requeijão. ....	33
Figura 10: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RC) com 0% v/v de gos. Aumento de 5000 x, 10 kv, MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura. Todas as barras equivalem a 5 $\mu$ m. ....	35
Figura 11: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RI) com 1,5% v/v de gos. Aumento de 5000 x, 10 kv. MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.....	35
Figura 12: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RII) com 3% p/v de gos. Aumento de 5000 x, 10 kv. MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.....	36
Figura 13: Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RIII) com 4% de gos. Aumento de 5000 x, 10 kv. MP= matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.....	36

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Formulações.....	22
Tabela 2: Características físico-químicas e composição centesimal de requeijão cremoso adicionados de galactooligossacarídeo (GOS). ....	26
Tabela 3: Avaliação parâmetros de cor ( $L^*$ , $b^*$ , $C^*$ , WI, YI) em requeijão cremoso prebiótico com adição de GOS. ....	27
Tabela 4: Valores dos parâmetros n (índice de comportamento), k (índice de consistência) e $R^2$ (índice de determinação) obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo da lei da potência para as amostras de requeijão cremoso. ....	29
Tabela 5: Valores médios dos parâmetros aF (força do gel), z (fator de interação) e $R^2$ (coeficiente de determinação) obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo de Winter & Chambon (1986) para as amostras de requeijão.....	33
Tabela 6: Derretimento dos requeijões (cm) .....	34
Tabela 7: Análise sensorial dos requeijões prebióticos .....	37

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	12
2	Objetivos .....	12
2.1	Objetivo Geral.....	12
2.2	Objetivos específicos .....	12
3	Justificativa.....	12
4	Revisão Bibliográfica .....	13
4.1	Alimentos funcionais .....	13
4.2	Perspectivas do mercado de alimentos funcionais.....	14
4.3	Prebióticos.....	15
4.4	Galactooligossacarídeo (GOS).....	16
4.5	Queijos .....	18
4.6	Queijos Processados.....	19
4.7	Requeijão Cremoso.....	20
4.8	Processamento do Requeijão .....	20
5	MATERIAL E MÉTODOS .....	21
5.1	Matéria prima.....	21
5.2	Método .....	21
5.2.1	Processamento do requeijão .....	21
5.3	Análises físico-químicas .....	23
5.4	Cor.....	23
5.5	Reologia .....	23
5.6	Derretimento .....	24
5.7	Microestrutura.....	25

5.8	Análise sensorial .....	25
5.9	Análise estatística.....	25
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
6.1	Características Físico-químicas .....	25
6.2	Cor.....	27
6.3	Reologia.....	28
6.4	Derretimento .....	33
6.5	Análise Sensorial .....	37
7	CONCLUSÕES.....	38
8	Referências Bibliográficas .....	38

# 1 INTRODUÇÃO

Por consequência do estilo mais acelerado da vida moderna, produtos industrializados passaram a desempenhar importante participação na nutrição humana. Cada vez mais pessoas se preocupam com a melhoria na qualidade de vida e bem-estar, praticando atividades físicas e cuidando de sua alimentação, visando à prevenção ao invés da cura da doença.

Produtos de origem animal são fundamentais para uma alimentação humana equilibrada, destacando-se o leite, que apresenta grande importância como fonte de proteínas, lactose, gordura e minerais, principalmente o cálcio. Porém, o mercado mostra-se promissor no que diz respeito à aquisição de alimentos que além da intrínseca função de nutrir o organismo, possa trazer benefícios à manutenção da saúde. Nesse contexto aplicam-se os prebióticos, probióticos e alimentos funcionais, todos comprovadamente com impacto positivo na melhoria do funcionamento do organismo.

Prebiótico é definido como ingredientes alimentares seletivamente fermentáveis as quais permitem modificações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal, resultando assim em benefícios ao bem-estar e à saúde do hospedeiro. Dentre os benefícios à saúde relacionados ao consumo de prebióticos a literatura relata a melhora na digestão e função intestinal, potencial prevenção do câncer de cólon, redução dos sintomas da síndrome do intestino irritável, regulação do sistema imune e possível controle da obesidade.

A indústria de laticínios vem se destacando nesse aspecto com o maior número de produtos funcionais, através de adição de probióticos e prebióticos em alimentos como o iogurte e os leites fermentados em geral. Adicionalmente, o requeijão cremoso é um produto típico do Brasil, ocupando lugar de destaque no consumo de lácteos, motivo pelo qual tem se tornado um dos focos das pesquisas de desenvolvimento de produtos funcionais. Uma alternativa para atender às necessidades atuais do mercado consumidor, cada vez mais preocupado com a manutenção da saúde, é a produção de um requeijão funcional com adição de galactooligossacarídeo como prebiótico. Nesse contexto serão avaliados diferentes percentuais de GOS e os produtos obtidos avaliados quanto ao físico químico, reologia, derretimento, microestrutura e aceitação sensorial.

## 2 Objetivos

### 2.1 Objetivo Geral

O presente projeto possui como objetivo o desenvolvimento de requeijão cremoso prebiótico, com o galactooligossacarídeo (GOS).

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a influência dos diferentes percentuais de GOS utilizados para elaboração do requeijão cremoso na composição, reologia e aspectos funcionais dos produtos;
- Obter parâmetros físico-químicos e reológicos dos requeijões obtidos;
- Caracterizar o derretimento, a cor e a microestrutura dos requeijões;
- Avaliar a aceitação sensorial dos produtos, a partir da aplicação de um teste afetivo com consumidores.

## 3 Justificativa

O desenvolvimento de alimentos funcionais é um mercado promissor, onde é necessário um fluxo de informações gerado pelas pesquisas a fim de fornecer um suporte aos investimentos pelas indústrias de alimentos. Acredita-se que a adição de galactooligossacarídeo (GOS) seja uma opção de aditivo na obtenção de um requeijão

cremoso prebiótico, propiciando uma alternativa à cadeia de leite no Brasil na elaboração de produtos funcionais, atendendo a expectativa dos consumidores, que estão cada vez mais conscientes e buscando benefícios na saúde através da alimentação.

## 4 Revisão Bibliográfica

### 4.1 Alimentos funcionais

Alimentos funcionais são aqueles que fornecem ou adicionam algum benefício para a saúde, além do valor nutritivo presente tradicionalmente nos alimentos (Khan et al., 2013). Nas últimas décadas, as exigências dos consumidores em relação ao consumo de alimentos mudaram de forma considerável, acreditando que os alimentos contribuem diretamente para a sua saúde. Nos últimos anos muitas pessoas vêm desenvolvendo diversas doenças relacionadas aos maus hábitos alimentares (Mitsuoka, 2014). Os alimentos hoje não têm a intenção de apenas saciar a fome e fornecer os nutrientes necessários, mas também para prevenir doenças relacionadas à nutrição e melhorar o bem-estar físico e mental dos consumidores. Nesse contexto os alimentos funcionais ganham espaço na alimentação humana (Sirò et al, 2008). Dentre os alimentos funcionais podemos ter:

- Alimento funcional habitual: àquele que apresenta propriedades funcionais naturalmente, como as substâncias bioativas e as fibras dietéticas;
- Os alimentos suplementados com substâncias bioativas, como é o caso dos probióticos e dos antioxidantes;
- Derivados de ingrediente alimentar introduzidas para alimentos convencionais, como é o caso dos prebióticos.

Para que um alimento seja considerado funcional ele deve ter uma eficácia fisiológica comprovada, sem contar que não são medicamentos, como comprimidos ou cápsulas, mas devem ser consumidos como parte de uma dieta diária equilibrada para que seu benefício à saúde seja percebido (Al-Sheraji et al., 2013).

A maior parte do progresso dos alimentos funcionais ocorre devido aos recentes avanços na pesquisa relacionando esses tipos de alimentos com a melhora da flora intestinal. Uma flora intestinal ideal é alcançada através de uma dieta nutricionalmente balanceada e um consumo ativo de alimentos funcionais, tais como oligossacarídeos, fibra alimentar e leites fermentados, que promovem as bactérias benéficas e/ou suprime as bactérias nocivas (Mitsuoka, 2014).

O termo alimento funcional surgiu na década de 80 no Japão, e na década de 90 foi denominado FOSHU (*Food for Specified Health Use*). O que se observa é que na maioria dos países não existe uma definição legislativa do termo e desenho de uma linha de fronteira entre alimentos convencionais e funcionais é um desafio até mesmo para especialistas em nutrição e alimentos (Matsuoka, 2014; Siró et al., 2008).

No Brasil a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) não possui a definição para alimento funcional, estabelecendo desde 1999 a Comissão Técnico-Científica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos (CTCAF) devido ao grande volume de registro de alimentos com alegações de funcionais no país. Assim, em 2005 a CTCAF estabelece os seguintes conceitos: alegação de propriedade funcional, o qual se refere ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente desempenha no crescimento, desenvolvimento, na maturação e em outras funções fisiológicas do organismo; e alegação de propriedade de saúde que afirma, sugere ou implica a existência de relação entre o alimento ou ingrediente e a doença ou condição relacionadas à saúde (Rosa; Costa, 2010).

No Brasil, os nutrientes liberados, com alegação de propriedade funcional e de saúde são: ácido graxo ômega 3, carotenóides (licopeno, luteína), fibras alimentares (betaglucana, frutooligosacarídeos, inulina, psyllium, quitosana, lactulose), fitoesteróis, probióticos e a proteína de soja. Quando forem adicionados nutrientes, suas quantidades devem ser declaradas na informação nutricional (BRASIL, 1999d).

A compreensão do processo de inovação na indústria de alimentos ainda está evoluindo e o processo de desenvolvimento de novos produtos alimentícios funcional tem sido descrito como complexo, caro e arriscado (Khan et al., 2013). A importância de a matriz alimentar e a funcionalidade do produto são atualmente de grande relevância para todos os envolvidos na industrialização de alimentos funcionais (Sanders; Marco, 2010). A viabilidade futura para produção em larga escala e o sucesso dos alimentos funcionais no mercado depende de vários elementos, porém, a questão primordial é a aceitação consciente do consumo de tais produtos (Baldissera et al., 2011).

#### **4.2 Perspectivas do mercado de alimentos funcionais**

A preocupação da população com a saúde vem movimentando um mercado de consumo crescente. Assim, as inovações entendidas como novos produtos, processos ou serviços são reconhecidos como um importante instrumento de diferenciação das indústrias de alimentos para se destacar dos concorrentes e para satisfazer as expectativas dos consumidores (Siró, 2008). Vários pesquisadores afirmam que os alimentos funcionais representam uma das mais interessantes áreas da investigação e inovação na indústria alimentar, pois há também apelo comercial impulsionado pelo progresso da indústria do bem estar, que por sua vez é alavancado pela mudança na mentalidade do consumidor em relação à alimentação saudável (Bigliardi; Galati, 2013).

O ano de 2014 foi de crescimento para indústria da saúde e bem-estar, mesmo após um período de incerteza econômica mundial. As vendas globais de produtos deste segmento da indústria registraram um crescimento de 6,5% em relação a 2013-2014 alcançando vendas de US\$ 774 bilhões. Os mercados emergentes, incluindo o da saúde e bem-estar, foram os que mais cresceram no mundo. O Brasil alcançou a quarta colocação mundial em gastos com estes tipos de produto, ficando atrás apenas dos Estados Unidos, China e Japão. A previsão é que até 2019 este setor gere 86% das novas vendas, devido à demanda do consumidor para alimentos naturais e funcionais (Euromonitor, 2014).

Devido a este crescimento da demanda muitas companhias multinacionais têm concentrado o foco dos produtos lançados para a área de saúde e bem-estar (Khan et al., 2013). Assim, os alimentos funcionais têm sido desenvolvidos em quase todas as categorias alimentícias, mas ainda não estão distribuídas homogeneamente em todos os segmentos da indústria. Entre todos os mercados de alimentos, os alimentos funcionais têm sido principalmente lançados através de produtos lácteos, produtos de confeitaria, bebidas não alcoólicas, panificação e comida para bebês (Bigliardi, Galati, 2013, Krasaekoopt, 2014).

Alguns autores propõem a seguinte classificação do ponto de vista do produto (Kotilainen et al., 2006; Sloan, 2000; Spence, 2006):

- Alimentos fortificados com a adição de nutrientes (produtos fortificados) como sucos de frutas fortificados com vitamina C, alimentos fortificados com vitamina E, ácido fólico, zinco e cálcio;
- Alimentos com adição de novos ingredientes ou nutrientes que naturalmente não são encontrados no alimento (produtos enriquecidos), como os prebióticos e os probióticos;

- Alimentos onde um componente prejudicial foi removido, reduzido ou substituído por outro com efeitos benéficos à saúde (produtos alterados), como adicionar fibras em substituição à gordura em produtos cárneos ou sorvetes;
- Alimentos em que se aumenta um nutriente presente naturalmente (produtos avançados), como ovos com maiores teores de ômega-3.

É possível vincular esses conceitos-chave propostos com os principais profissionais envolvidos no processo de pesquisa e desenvolvimento de alimentos funcionais: o nutricionista, com o conhecimento das funções nutricionais; o engenheiro de alimentos, com o conhecimento acerca das matérias-primas, ingredientes e processos tecnológicos; e o especialista em saúde, com os benefícios para a saúde, marcadores fisiológicos e mecanismos patogênicos (Bigliardi; Galati, 2013).

No Brasil, o Ministério da Saúde, através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os Alimentos Funcionais através das seguintes resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99; ANVISA/MS 19/99, cuja essência é: a) Resolução da ANVISA/MS 16/99 - trata de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, cuja característica é de não necessitar de um Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para registrar um alimento, além de permitir o registro de novos produtos sem histórico de consumo no país e também novas formas de comercialização para produtos já consumidos (Brasil, 1999a); b) Resolução da ANVISA/MS 17/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança de Alimentos que prova, baseado em estudos e evidências científicas, se o produto é seguro sob o ponto de risco à saúde ou não (Brasil, 1999b); c) Resolução ANVISA/MS 18/99 - Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou de Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (Brasil, 1999c).

O desenvolvimento de alimentos funcionais é um mercado promissor, onde é necessário um fluxo de informações gerado pelas pesquisas a fim de fornecer um suporte aos investimentos pelas indústrias de alimentos, além de fornecer informações necessárias às decisões de consumo e às regulamentações governamentais.

### **4.3 Prebióticos**

Prebióticos são componentes alimentares não viáveis que conferem benefícios à saúde do hospedeiro associada à modulação da flora intestinal (FAO, 2007). De forma geral, entende-se por prebióticos os polissacarídeos ou oligossacarídeos não digeríveis, chegando intacto ao intestino humano e promovendo o crescimento e melhorando a atividade de bactérias benéficas presentes no cólon (Gibson; Roberfroid, 1995). Dessa maneira, os prebióticos são considerados alimentos funcionais, pois influenciam de forma direta processos fisiológicos e bioquímicos no organismo humano, levando a uma melhoria da saúde e redução no risco de aparecimento e desenvolvimento de diversas doenças, através dos seguintes efeitos: modulação da microbiota intestinal, alteração do metabolismo microbiano, estímulo da imunidade do hospedeiro, estímulo na absorção de determinados nutrientes, dentre outros (Saad, 2006, Al-Sheraji et al., 2013).

Além desta característica de trazer benefício à saúde, os prebióticos possuem estabilidade química durante condições no processamento de alimentos, como variações de temperatura, baixo pH e condições para a reação de Maillard. Nas formulações de alimentos contribuem positivamente nas características sensoriais melhorando a palatabilidade dos mesmos (Wang, 2009, Al-Sheraji et al., 2013). Por esses motivos esse conceito atrai um

grande interesse no campo da nutrição, tanto em pesquisa científica como na sua aplicação em alimentos (Aachary; Prapulla, 2011).

É necessário estabelecer critérios claros para a classificação de um ingrediente alimentar como um prebiótico. Tal classificação exige uma base científica e demonstração de que o ingrediente resiste à acidez gástrica; não é hidrolisado por enzimas do trato gastrointestinal (TGI); não é absorvido no TGI superior; é fermentada por microrganismos intestinais; e induz a estimulação seletiva de crescimento e/ou atividade de bactérias intestinais, potencialmente relacionadas com a saúde e bem-estar (Gibson; Roberfroid, 1995).

Os prebióticos mais comumente utilizados no processamento de alimentos são a inulina, o frutooligossacarídeo (FOS) e o galactooligossacarídeo (GOS). Esses oligossacarídeos são processados a partir de diferentes métodos, seja isolando em vegetais através de produção microbiológica ou síntese enzimática e degradação enzimática de polissacarídeos (Al-Sheraji et al., 2013).

O uso de prebióticos como componente alimentar tem diversas vantagens desde a melhora das características sensoriais e fornece melhor composição nutricional, apresentando em cereais matinais uma maior qualidade no perfil das fibras dietéticas e deixa o alimento com características de fresco por um tempo maior, aumentando assim sua vida de prateleira (Franck; Coussement, 1997).

As doses dos prebióticos para que apresentem os efeitos positivos no organismo varia de acordo com o tipo de oligossacarídeo. Muitos autores recomendam a ingestão diária de 10g por dia de GOS para observar os efeitos bifidogênicos, porém 2,5g de prebióticos por dia já é suficiente para aumentar os níveis fecais de bifidobactérias (Sako; Matsumoto; Tanaka, 1999).

Nas indústrias de lácteos muitos produtos já vêm sendo desenvolvidos contendo prebióticos em sua composição, especialmente iogurte *diet* com frutas. É usado principalmente a inulina que neste caso não altera as características químicas, como o pH, assim com as características reológicas (Krasaekoop, 2014).

#### 4.4 Galactooligossacarídeo (GOS)

Os galactooligossacarídeos (GOS) são carboidratos não digeríveis resistentes às enzimas digestivas e fermentados por bifidobactérias. Pertencem a um grupo de oligossacarídeos compostos por moléculas de galactose ligada à lactose, sendo formados de tri a hexassacarídeos com 2-5 unidades de galactose (Sako; Matsumoto; Tanaka, 1999).

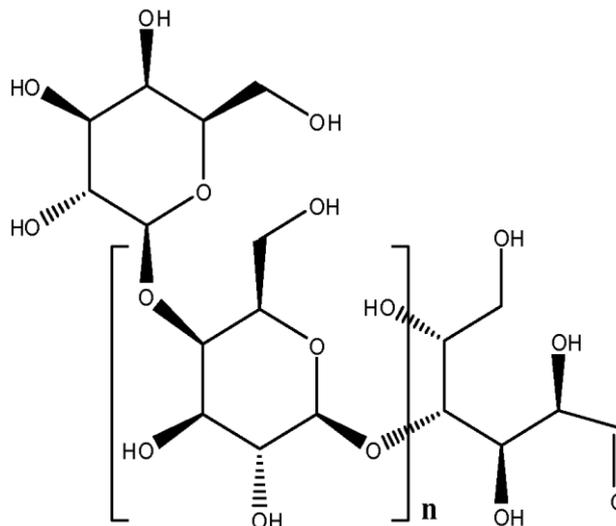
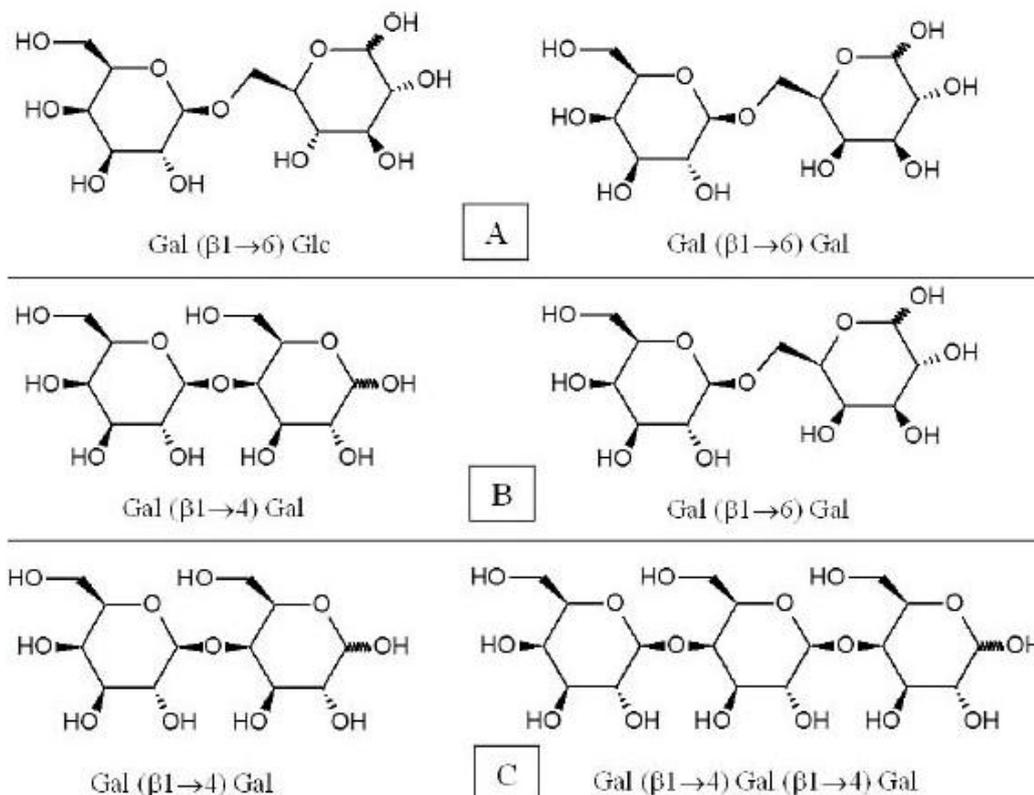


Figura 1: Estrutura básica do Galactooligossacarídeo

Em termos de estrutura química, os GOS podem diferir em relação às seguintes características: composição, regioquímica, ligação glicosídica e grau de polimerização (Figura 1. Gal=Galactose, Glc=Glicose).



**Figura 2: Exemplos de diferentes estruturas de GOS.**

(A) Composição, (B) Regioquímica, (C) Grau de polimerização (Adaptado de Fai; Pastore, 2015).

Sintetizados a partir da transgalactosilação da lactose, os galactooligosacarídeos são carboidratos não digeríveis, sendo classificados como ingredientes prebióticos de alto valor agregado (Kothari et al., 2014).

Estudos recentes atribuem a estes oligossacarídeos uma série de potenciais benefícios à saúde e de prevenção de doenças (Slavin, 2013; Fai; Pastore, 2015). O importante mecanismo de ação do GOS é a fermentação no cólon e alterações na microflora intestinal. O intestino grosso humano é um dos órgãos mais diversamente colonizados e metabolicamente ativos no corpo humano (Gibson et al, 2010; Martins; Burkert, 2009). Inúmeras espécies diferentes de bactérias residem no cólon por ser um ambiente favorável para o crescimento desses microrganismos devido ao lento tempo de trânsito STI, nutrientes disponíveis, e pH favorável (Cummings; Macfarlane, 1991).

Os GOS são caracterizados como ingredientes seguros para o consumo ou GRAS (*Generally Recognized as Safe*), uma vez que são componentes do leite humano, sendo ainda produzidos no intestino por micro-organismos produtores de β- galactosidase a partir da lactose ingerida (Fai; Pastore, 2015). São também naturalmente encontrados como elemento em diversos alimentos, nas sementes e nos órgãos de leguminosas, bem como são sintetizados no metabolismo de animais e microrganismos, não apresentando toxicidade para o organismo (Rodriguez-Colinas et al., 2014; Otieno, 2010). Os benefícios da ingestão de GOS são o aumento da população de bifidobactérias no cólon e, por efeito antagônico, supressão da

atividade de bactérias putrefativas, reduzindo a formação de metabólitos tóxicos (Tomomatsu, 1994), e produção de ácidos graxos de cadeia curta (Ishikawa et al., 2005).

Bactérias do cólon usam uma variedade de hidratos de carbono para produzir enzimas hidrolisar hidrogênio, metano, dióxido de carbono e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), principalmente acetato, propionato, butirato e lactato. Estes produtos alimentares estimulam a fermentação levam a um aumento da massa bacteriana e massa fecal e, conseqüentemente assim, ter um efeito de volume de fezes, e é estimado que cerca de 30 g de bactérias são produzidos para cada 100 g de carboidrato que é fermentado (Gibson et al, 2010).

Juntamente com o sistema imune do intestino, a microflora do cólon e da mucosa contribui significativamente para a barreira que impede que as bactérias patogênicas de colonizar o sistema gastrointestinal.

Defillippo e colaboradores (2010) afirmam que em geral, um número de fatores influencia a composição da microflora, estes incluem alterações nas condições fisiológicas do hospedeiro (por exemplo, o stress idade, estado de saúde), a composição da dieta, e as circunstâncias ambientais (por exemplo, antibioticoterapia, higiene com anti-sépticos, entre outros).

Os GOS podem ser utilizados tanto na indústria alimentícia quanto em outras áreas, como na agricultura e indústria farmacêutica. Os produtos sintetizados disponíveis comercialmente são compostos por vários tipos de misturas de oligossacarídeos transgalactosilados mesclados à lactose, glicose e galactose resultantes do processo de síntese e hidrólise (Li et al., 2008). De forma geral, os oligossacarídeos são solúveis em água, levemente doces e equivalem de 30 a 60% à doçura da sacarose.

Apesar de solúvel em água, a fibra utilizada não é digerida no intestino delgado e, portanto, entra no intestino grosso praticamente em sua totalidade onde é fermentada, o seu valor calórico é inferior ao do carboidrato digerível, ou seja, inferior a 4 kcal por grama, portanto não adiciona valor calórico no produto significativamente (Martins; Burkert, 2009).

O reconhecimento das propriedades promotoras de saúde de microrganismos intestinais tem incentivado o desenvolvimento de alimentos com adição de prebióticos com base da microflora intestinal humana. Um resumo de um workshop sobre prebióticos e os benefícios de saúde de fibras recentemente foi publicado e concluiu que pesquisas adicionais são necessárias para definir a relação entre o consumo de prebióticos e melhoria da saúde humana (Brownawell et al., 2012).

#### **4.5 Queijos**

No Brasil e no mundo, o queijo é um dos produtos lácteos que mais se difundiu e um dos que mais sofreu adaptações nas formas de elaboração (Oliveira; Caruso, 1996; Perry, 2004; Spreer, 1991). A produção mundial de queijo deverá aumentar 14,7%, a uma taxa de +1,5% ao ano, evoluindo de 20,3 milhões de toneladas para 23,3 até 2022 (CONAB, 2014). Dados fornecidos pela Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), 894.125 t de queijo foram produzidas por empresas inspecionadas em 2013 no país. Entretanto a produção real de queijos no Brasil é desconhecida, pois não estão disponíveis os dados das fábricas com produções inspecionadas por fiscalização estadual, municipal e as produções artesanais (Furtado, 1991).

Embora o processo básico de fabricação de queijos seja comum a quase todos, variações na origem do leite, nas técnicas de processamento e no tempo de maturação ocasionam, conseqüentemente, o surgimento dos vários tipos existentes.

A tecnologia de fabricação compreende as seguintes etapas básicas: seleção e pasteurização do leite, coagulação do leite, corte da coalhada para liberação do lactosoro, enformagem e prensagem, salga e embalagem (Perry, 2004; Spreer, 1991).

Nutricionalmente, o queijo é considerado um alimento altamente nutritivo devido aos teores de proteína, a grande quantidade de aminoácidos essenciais, lipídeos, carboidratos, sais minerais,

cálcio, fósforo e vitaminas, principalmente as vitaminas A (retinol), D (calciferol) e as do complexo B (Van Dender, 2014).

O consumo per capita de queijos no Brasil teve crescimento médio anual de 8,3% ao ano entre 2006 e 2013. Esta evolução levou o consumo brasileiro a uma média per capita de 5,3 kg por ano. A projeção é de que cheguemos a um consumo per capita de 8 kg de queijos por habitante ano em 2017. Atingindo este consumo, teremos ainda consumo muito inferior ao consumo americano (Milk Point, 2015).

#### **4.6 Queijos Processados**

No final do século XIX surgiu uma das primeiras patentes referentes à aplicação de calor para deter os processos microbiano e enzimático em queijo fresco e queijo tipo Camembert. Esta tecnologia mostrava sua vantagem no transporte de queijos a longas distâncias. Entretanto constatou-se o inconveniente de uma separação da proteína e da gordura no produto. Investigações para sanar esse problema originaram uma técnica que consistia basicamente em solubilizar o caseinato de cálcio da matéria prima por meio de calor, utilizando o citrato de sódio como agente peptizante, propiciando que após o resfriamento da mistura, obtivesse um gel mais ou menos firme e homogêneo, que foi chamado de queijo fundido (Van Dender, 2014).

O queijo processado é obtido a partir de uma mistura de um ou mais queijos, gordura, água e sais fundentes, principalmente o citrato, fosfato ou polifosfato de sódio. Durante o processamento os sais fundentes desempenham importante papel de forma a garantir produtos homogêneos e com a consistência desejada (Johnson et al., 2009).

Segundo Oliveira (1986), os queijos cujas características da massa possuam uma destruição completa da estrutura original do coágulo podem ser classificados como queijos de massa fundida ou queijos processados. Fernandes e colaboradores (1985) destacaram que as diferenças entre estes consistiam no tipo de matéria-prima e de sal fundente utilizados na formulação, e dos teores de gordura e umidade presentes no produto final. A regulamentação americana (CFR) define legalmente queijo processado como pertencentes a três categorias principais com base nos requisitos para teor de umidade máxima, teor mínimo de gordura, e a quantidade e número de ingredientes opcionais permitidos (FDA, 2008; Johnson et al., 2009).

No Brasil, a regulamentação de fixação de identidade estabelece a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deverão cumprir os Queijos Processados ou Fundidos ou ainda pasteurizado (a seguir denominados Queijo Processado) e o Queijo Processado submetido a tratamento térmico de ultra-alta temperatura, denominados Queijo Processado U.H.T (UAT). Segundo a regulamentação, queijo processado entende-se pelo produto obtido por trituração, mistura, fusão e emulsão por meio de calor e agentes emulsionantes de uma ou mais variedades de queijo, com ou sem adição de outros produtos lácteos e/ou sólidos de origem láctea e ou especiarias, condimentos ou outras substâncias alimentícias, no qual o queijo constitui o ingrediente lácteo utilizado como matéria prima preponderante na base láctea (Brasil, 1997). Queijo Processado U.H.T (U.A.T.) é o produto denominado Queijo Processado, porém submetido, após a fusão, a tratamento térmico de 135°C-145 °C durante 5 a 10 segundos ou qualquer outra combinação de tempo/temperatura equivalente.

Como ingredientes obrigatórios, queijos processados possuem queijos de uma ou mais variedades e agentes emulsificantes autorizados, podendo conter como ingredientes opcionais: creme, manteiga, gordura anidra de leite ou butter-oil, leite, água, queijo processado, leite em pó, caseinatos, queijo em pó, outros sólidos de origem láctea, cloreto de sódio, condimentos, especiarias, outras substâncias alimentícias, edulcorantes nutritivos, amidos ou amidos modificados, ar, nitrogênio, dióxido de carbono, gases inertes, todos eles de qualidade alimentar. Sendo que os ingredientes opcionais que não façam parte da base láctea, exceto a água, isolados ou combinados, deverão estar presentes em uma proporção máxima de 30% (m/m) do produto final (Brasil 1997).

Os queijos processados podem apresentar-se de formas variadas, comercializados em blocos para fatiar, em porções (retangulares e quadrados) embaladas individualmente para lanche e aperitivo, fatiados, em copos ou bisnagas (Van Dender, 2014).

#### **4.7 Requeijão Cremoso**

Requeijão é uma denominação dada a inúmeras variedades de queijos fundidos característicos do Brasil, que se originaram como subproduto da produção de manteiga, e que foram se desenvolvendo tecnologicamente de acordo com os recursos disponíveis em cada região do país (Van Dender, 2006). É um queijo processado tipicamente brasileiro, que surgiu em fabricações caseiras, como forma de aproveitamento do leite coagulado espontaneamente devido à ação da microbiota láctica presente no leite (Van Dender, 2014).

De acordo com Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o requeijão é classificado, de acordo com as matérias-primas empregadas no processo de elaboração, teor de gordura no extrato seco e teor de umidade em: requeijão, requeijão cremoso e requeijão de manteiga. Seu regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade compreende por requeijão cremoso o produto obtido por fusão prolongada de uma massa coalhada dessorada e lavada, formada pelo processo de coagulação ácida e/ou enzimática do leite com adição de creme de leite e/ou manteiga e/ou gordura anidra e/ou *butter oil*. O requeijão deve conter no mínimo 55,0% de matéria gorda no extrato seco e 65% de umidade máxima (Brasil, 1997). O requeijão cremoso típico deve apresentar a composição: 38 a 40% de extrato seco total, 60 a 62% de gordura no extrato seco, 30 a 33% de nitrogênio total, 1,0 a 1,5% de cloreto de sódio e pH entre 5,2 e 5,7 (Van Dender, 2014).

Segundo a ABIQ, os 3 queijos mais fabricados no país são a muçarela, o prato e o requeijão representando 68,9% no volume total de produção de queijos (ABIQ, 2014, Milkpoint, 2014). No entanto, o requeijão de mesa foi o que teve maior expansão em 10 anos, da ordem de 94% (ABIQ, 2012; Van Dender, 2012). O aumento do consumo de requeijão se deu na década de 90, quando se instalavam no Brasil as redes *fast food* e a expansão de *food service*. Além de estar presente como produto de mesa, o requeijão acabou sendo incorporado também em receitas de produtos prontos para consumo. (Van Dender, 2014, ABIQ, 2014, Milkpoint, 2014). Dentre os tipos de requeijões comercializados no Brasil, o requeijão cremoso se destaca como o mais tradicional e de maior consumo no mercado nacional (Rapacci, 1997). Juntamente com o queijo muçarela e prato, o requeijão participa de 68,9 % no volume total de produção de queijos (ABIQ, 2014).

#### **4.8 Processamento do Requeijão**

Para a elaboração do requeijão cremoso utiliza-se o princípio básico de fundir seus dois elementos principais: a proteína e a gordura, submetendo a matéria prima ao calor e à agitação mecânica. (Van Dender, 2014). Pode ser desenvolvido a partir de leite desnatado cru ou pasteurizado, com ou sem adição de culturas lácticas, sendo a utilização do leite desnatado atualmente mais utilizado, pois há perda de gordura no soro durante a etapa de dessoragem quando se trabalha com leite cru (Van Dender, 2014). O leite de vaca é o mais utilizado, ainda que seja possível formulá-lo com leite de cabra ou búfala (Brasil, 1997, Drunkler et al., 2006; Van Dender, 2014). Silva e Fernandes (2003) destacam que não há a necessidade de adição de fermento quando se utiliza leite cru, podendo o leite apenas permanecer em repouso, em latões ou tanques próprios, por aproximadamente 10 horas à temperatura ambiente (20°C), obtendo assim no fim do processo uma coalhada distinta.

A Pasteurização do leite, matéria básica na elaboração do requeijão, pode ser feita pelo processo contínuo ou descontínuo. O processo contínuo (72-75°C / 15-20s) é mais utilizado pelas grandes indústrias, porém como o requeijão cremoso é submetido a um tratamento térmico, podendo substituir a pasteurização no ponto de vista higiênico- sanitário (Van Dender, 2014).

A massa utilizada na fabricação de requeijão pode ser obtida por meio de coagulação ácida (ácido láctico ou acético), coagulação enzimática e a mais tradicional, a coagulação por meio de fermentos lácticos. A coagulação ácida ocorre devido ao abaixamento do pH até chegar ao ponto isoelétrico da caseína, ao redor de 4,6. Com essa acidificação, as cargas elétricas das partículas coloidais da caseína se neutralizam ou se igualam e a força de repulsão, devido ao excesso de cargas negativas existentes na caseína em um pH próximo da neutralidade, deixa então de existir, permitindo assim, que as partículas coloidais se unam formando o coágulo ou gel. Já a coagulação enzimática ocorre por produto denominado coalho ou coagulante. São compostos de enzimas proteolíticas de origem animal (quimosina e pepsina). Na coagulação ácida por fermentação, a acidificação do leite ocorre por meio da adição de cultura mesófila acidificante composta normalmente por *lactococcus lactis spp lactis* e *lactococcus lactis spp cremoris*, a qual utiliza a lactose do leite como substrato (Van Dender, 2014).

Dentre os ingredientes, a água é indispensável no processo de fusão na elaboração do requeijão cremoso e nos outros queijos fundidos, auxiliando a transferência de energias térmica e mecânica durante a formação do “sol” de caseinato, bem como por atuar como solvente e dispersante da mistura. Ela é adicionada à massa para dissolver o sal, produzir boa dispersão da caseína, além de formar emulsão entre a proteína e a gordura (Berger et al., 1989; Lee; Anema; Klostermeyer, 2004, Van Dender, 2014). Para evitar que a gordura e a água da mistura se separem, o que ocorreria naturalmente após o aquecimento, é necessário adicionar emulsificantes conhecidos como sais fundentes (Van Dender, 2014).

A aplicação dos sais de fundentes está relacionada com a peptização da cadeia, dispersão, hidratação e inchamento das proteínas, além da estabilização da gordura e emulsificação (Cerníková et al., 2010; Hladká et al., 2014). Por este motivo, no processamento de queijos processados, a redução do teor de cloreto de sódio apresenta desafios específicos, uma vez que o sal desempenha importantes funções na matriz queijo, sendo utilizado para manter o sabor, a reologia e vida de prateleira, este último relacionado ao controle das atividades de enzimas e micro-organismos (Johnson et al., 2009).

Atualmente, como já mencionado, há um grande interesse dos consumidores em alimentos que contribuam favoravelmente à redução do risco de aparecimento de doenças crônico-degenerativas. Esse cenário encoraja o desenvolvimento de estudos de novas tecnologias no processamento de alimentos funcionais. No entanto a adição de fibras pode afetar a qualidade e aceitação sensorial do produto final (Saint-Eve et al., 2009 , Cruz et al., 2011).

## **5 MATERIAL E MÉTODOS**

### **5.1 Matéria prima**

Foi utilizada a massa coalhada (3.5% p/p gordura), adquirido do Núcleo de Apoio a Tecnologia de Alimentos, NATA (São Gonçalo, Rio de Janeiro) e transportada para o Laboratório de Fermentações do Complexo de Alimentos do Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), onde os requeijões foram processados.

### **5.2 Método**

#### **5.2.1 Processamento do requeijão**

A parte experimental do projeto foi feita na planta de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia (IFRJ), unidade Rio de Janeiro, sendo os procedimentos e etapas realizados de acordo com Gaino (2012) e Van Dender et al (2012) com modificações. Os componentes utilizados nesta etapa foram: massa coalhada adquirida no Núcleo de Apoio a Tecnologia de Alimentos (NATA), creme de leite fresco, sal fundente Joha S9, sorbato de potássio, sal (NaCl) e galactooligossacarídeo em xarope (Vivinal® GOS 59% Syrup da marca Domo®). Os requeijões foram formulados nas porcentagens em relação ao peso da massa e observa-se na tabela 1.

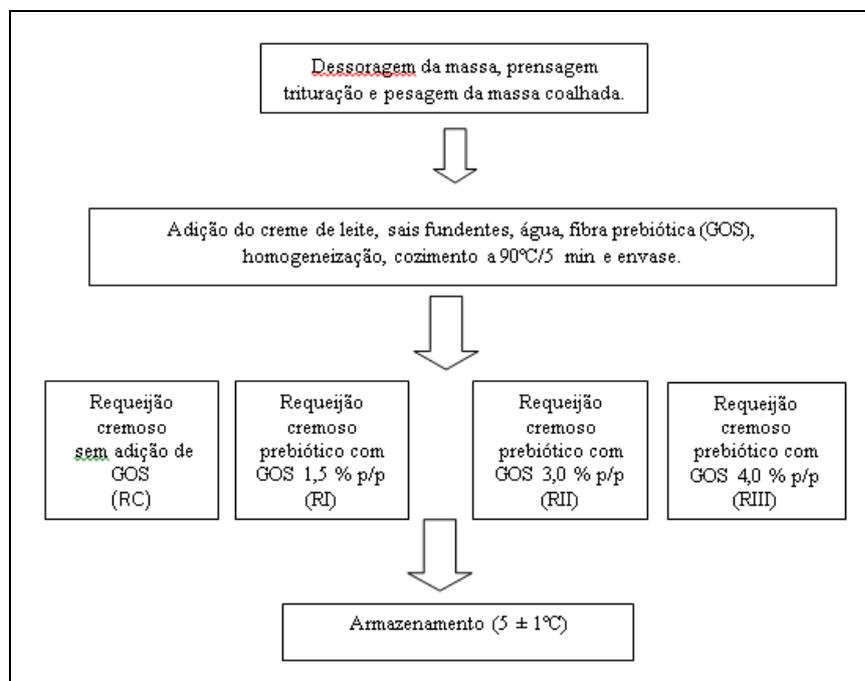
O processamento do requeijão foi realizado em duas etapas, realizadas de forma sequencial: Na etapa 1 foi processado apenas o requeijão cremoso tradicional, com ausência de GOS, sendo a fusão realizada em 90°C/5 min com posterior envase à quente. Na etapa 2, foram processados os requeijões prebióticos com adição de 1,5% GOS; 3,0% GOS e 4,0% (% p/p) respectivamente (formulações RI, RII e RIII). Em ambas as etapas os produtos foram armazenados em copos de plásticos de polipropileno com tampa rosqueável e armazenados sob refrigeração (T=5-10°C).

**Tabela 1: Formulações**

Ingredientes	RC	RI	RII	RIII
Massa (g)	500 g	500 g	500 g	500 g
Creme de leite (ml)	37% (185 ml)	37% (185 ml)	37% (185 ml)	37% (185 ml)
Água (ml)	20% (100 ml)	20% (100 ml)	20% (100 ml)	20% (100 ml)
Sal (g)	1,5% (7,5 g)	1,5% (7,5 g)	1,5% (7,5 g)	1,5% (7,5 g)
Sal fundente (g)	1,5% (7,5 g)	1,5% (7,5 g)	1,5% (7,5 g)	1,5% (7,5 g)
Sorbato de Potássio (g)	0,1% (0,5 g)	0,1% (0,5 g)	0,1% (0,5 g)	0,1% (0,5 g)
GOS (ml)	-	1,5% (7,5 ml)	3,0% (15 ml)	4,0% (20 ml)

\*Valores em % em relação ao peso de massa; entre parênteses quantidade adicionada em g ou ml.

O fluxograma geral de processamento dos requeijões cremosos está representado na Figura 3.



**Figura 3: Fluxograma geral de processamento**

### 5.3 Análises físico-químicas

As análises físico-químicas foram realizadas aos sete dias de estocagem refrigerada e compreenderam o pH, composição centesimal (sólidos totais, proteínas, gorduras e fibras), características reológicas (perfil de textura) e derretimento. Todas as análises foram realizadas seguindo metodologia oficial.

O pH das amostras foi determinado utilizando potenciômetro marca Digimed (São Paulo - SP), modelo DM-20, à 25°C, com determinação por inserção direta do eletrodo na amostra (Brasil, 2006). O teor de nutrientes do requeijão cremoso (sólidos totais, proteína, gordura) foi determinado através de metodologias convencionais (Brasil, 2006). A análise de fibras foi realizada de acordo com Horwitz et al. (2005).

### 5.4 Cor

A mensuração da cor foi realizada em três determinações separadas de cada um dos quatro tratamentos de requeijão a  $7 \pm 2$  °C no primeiro dia de estocagem, utilizando um colorímetro portátil (CR-410, Minolta Sensing Konica, Inc., Tóquio, Japão). As coordenadas  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  foram obtidas através da escala CIE, em que  $L^*$  determina medida de luminosidade,  $a^*$  a variação de verde (-) para vermelho (+) e  $b^*$  de azul (-) para amarelo (+), utilizando o iluminante D65 e observador em 10°. O ângulo de tonalidade ( $h$ ), e croma ( $C^*$ ) foram calculados a partir das equações 1 e 2 e o índice de brancura (WI) foi calculado a partir da equação 3 (Balthazar et al, 2015), respectivamente:

$$\text{Equação 1: } h_{ab} = \tan^{-1} (b^*/a^*) \quad (1)$$

$$\text{Equação 2: } C^*_{ab} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (2)$$

$$\text{Equação 3: } WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2} \quad (3)$$

### 5.5 Reologia

As medidas reológicas das formulações de requeijões foram determinadas através de ensaios de escoamento em estado estacionário (curvas de fluxo) e dinâmico (ensaios oscilatórios) em reômetro de tensão controlada Paar Physica MCR 300 (Anton Paar GmbH, Graz, Áustria), com geometria de cone-placa (5 cm, 2°) e gap de 53 µm. As amostras foram colocadas no prato e deixadas para descansar a  $10 \pm 0,1$ °C durante 10 min para recuperação da estrutura. A temperatura dos ensaios foi mantida com auxílio de sistema de controle de temperatura Physica TEK 150P. As análises foram realizadas em triplicata para cada formulação.

#### *Curvas de Fluxo*

Para a obtenção das curvas de fluxo, três varreduras de tensão de cisalhamento foram realizadas: a primeira com taxa de deformação crescente (0 a 100 s<sup>-1</sup>), a segunda decrescente (100 a 0 s<sup>-1</sup>) e a terceira, novamente, crescente (0 a 100 s<sup>-1</sup>). Os dados da terceira curva foram ajustados ao modelo da lei da potência (Eq. 4) através de análise de regressão não-linear usando *software* STATISTICA 5.0 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA).

**Equação 4:**  $\sigma = k \dot{\gamma}^n$  (4)

Onde  $\sigma$  é a tensão de cisalhamento (Pa),  $k$  é o índice de consistência (Pa.s<sup>n</sup>),  $\dot{\gamma}$  é a taxa de cisalhamento (s<sup>-1</sup>), e  $n$  é o índice de comportamento (adimensional).

### Ensaio Oscilatórios

Nos ensaios oscilatórios,  $G'$  (módulo elástico),  $G''$  (módulo viscoso) e  $G^*$  (viscosidade complexa/ módulo complexo) foram medidos a frequências entre 0,1 e 10 Hz, com um valor de tensão constante igual a 0,3 Pa, dentro do intervalo de viscoelasticidade linear, a qual foi determinada através de ensaios preliminares de varrimento de amplitude de deformação (0,01 - 10%), com uma frequência fixa de 1 Hz (dados não mostrados), de acordo com Veiga, Cunha, Viotto e Petenate (2000). A tangente do ângulo de fase representa a razão entre as propriedades viscosas e elásticas das amostras e foi determinada de acordo com a Eq.5.

**Equação 5:**  $\tan \delta = \frac{G''}{G'}$  (5)

Os módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) foram utilizados para o cálculo do módulo complexo ( $G^*$ ) de acordo com a Eq.6.

**Equação 6:**  $G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2}$  (6)

O modelo do gel crítico de Winter & Chambon (1986) foi utilizado para a avaliação das mudanças nas propriedades viscoelásticas das amostras em função da frequência (Eq. 4) (Macků et al., 2009). Os dados foram ajustados através de análise de regressão não-linear usando *software* STATISTICA 5.0 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA).

**Equação 7:**  $G^* = A_F \omega^{1/z}$  (7)

Onde  $A_F$  (Pa.s<sup>1/z</sup>) representa a força do gel,  $\omega$  é a frequência em Hz e  $z$  (adimensional) corresponde ao fator de interação o qual é definido como o número de unidades estruturais interagindo entre si em uma rede tridimensional.

As medidas reológicas dos requeijões foram realizadas em escoamento em estado estacionário e dinâmico (ensaios oscilatórios). Um reômetro de tensão controlada Paar Physica MCR 300 (Anton Paar GmbH, Graz, Áustria), com geometria de cone-placa (5 cm, 2°), foi empregado para realizar essas medidas. A temperatura dos ensaios foi mantida a 10°C, na placa inferior, por um sistema Peltier. Para a obtenção das curvas de fluxo, duas varreduras de tensão de cisalhamento foram realizadas: a primeira com taxa de deformação crescente (0 a 100 s<sup>-1</sup>), a segunda decrescente (100 a 0 s<sup>-1</sup>). Nos ensaios oscilatórios,  $G'$  (módulo elástico),  $G''$  (módulo viscoso) e  $G^*$  (viscosidade complexa) foram medidos a frequências entre 0,01 e 10 Hz, com um valor de tensão constante igual a 0,3 Pa, dentro do intervalo de viscoelasticidade linear (determinado em ensaios preliminares).

## 5.6 Derretimento

Segundo a metodologia utilizada por Cunha e Viotto (2010) as condições mais adequadas para a realização do teste de fusão do requeijão cremoso seria 110°C por 7 min (5 + 2 min), pesando 15 gramas ( $\pm$  0,20 g) das amostras diretamente nos tubos de fusão. Estes tubos (250 mm cilindros de vidro longo  $\times$  30 mm de diâmetro, fornecido com rolhas de borracha em ambas as extremidades) foram gravados com duas linhas de referência no vidro, um longitudinal e outro transversal. Depois de serem pesados, os tubos foram deixados em posição vertical num banho de gelo durante 30 min. A rolha de borracha foi ajustada em seguida, de modo que a superfície do queijo ficasse em linha com a linha de referência

transversal gravado. Os tubos então foram colocados horizontalmente no suporte, e posteriormente numa incubadora de ar forçado à 110°C durante 5 min. O suporte foi então removido do forno e os tubos inclinados a 45° de modo a interromper o fluxo de queijo. Foi marcada a distância que a amostra fundida fluirá a partir da linha de referência para a borda. Depois o suporte foi devolvido à posição horizontal e colocado na incubadora durante mais 2 min. A marcação da distância da amostra fundida foi repetida. A distância total em centímetros abrangida pela amostra durante o tempo de 5 + 2 min de aquecimento foi denominada "fluxo de queijo" e usada como o índice de fusão.

## **5.7 Microestrutura**

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica valiosa na pesquisa de laticínios, pois fornece informações sobre a microestrutura de produtos lácteos, as quais estão relacionadas com as propriedades físicas (Cunha; Alcântara; Viotto, 2012; Liu; Xu; Guo, 2008). Pequenas porções análogas do requeijão (aproximadamente 5 g) serão fixadas com 2,5% (v / v) de glutaraldeído em água durante 1 hora e lavadas três vezes com tampão de fosfato. Depois disso, as amostras serão então colocadas em 0,2% (w / v) de OsO<sub>4</sub> deixada durante a noite, lavadas três vezes com tampão de fosfato e desidratados numa série de etanol graduada [(50-70-90-100)% (v / v); 20 min por passo] e colocados em 100% (v / v) de etanol durante 24 horas. As amostras serão secas, trituradas e revestidas com Au por revestimento por pulverização catódica de diodo. As micrografias serão realizadas com um QUANTA-200 (FEI) a uma voltagem de aceleração de 10,0 kV e observadas usando o JEOL JSM microscopia eletrônica.

## **5.8 Análise sensorial**

O teste afetivo foi realizado com 80 consumidores de produtos lácteos (50 mulheres, 40 homens, idade entre 19-48 anos). Foram avaliados os seguintes atributos: aparência, cor, aroma, sabor, textura e impressão global dos queijos utilizando escala hedônica híbrida de 9, sendo os extremos da escala: 1 = desgostei extremamente e 9 = gostei extremamente. As amostras foram servidas monadicamente, na temperatura de 5°C, sendo servido aproximadamente 10g de requeijão em cada tratamento (Meilgaard et al., 2007).

## **5.9 Análise estatística**

Para as análises físico-química, reológicas, ópticas e sensorial, os resultados obtidos foram analisados através de análise de variância pelo sistema (ANOVA) e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software XLSTAT for Windows versão 2015.6.

# **6 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## **6.1 Características Físico-químicas**

Os resultados referentes às análises físico-químicas podem ser observados na tabela 2. Os resultados obtidos mostram que não houve influência significativa dos tratamentos com galactooligossacarídeo nos requeijões nos parâmetros físico-químicos ( $p > 0,05$ ). Os valores de pH variaram 6,23 e 6,35 enquanto que a umidade variou entre 64,50 e 64,19 %, o extrato seco entre 35,50 e 35,81, proteína entre 15,45 e 15,89, gordura entre 19,78 e 19,99, gordura no extrato seco entre 55,32 e 56,30, respectivamente.

O pH é um parâmetro importante para a identidade e qualidade de todos os queijos, pois afeta diretamente sua estrutura e propriedades reológicas. Presume-se que o pH altere fortemente as interações químicas entre os componentes estruturais (proteínas, água e

minerais) dos queijos (Pastorino et al., 2003) As amostras analisadas contendo diferentes concentrações de GOS não diferenciaram significativamente ( $P < 0,05$ ) em relação ao requeijão controle (RC) com pH= 6,2 e mantiveram-se dentro dos limites de qualidade estabelecidos pela legislação. O intervalo de pH recomendado varia de 5,5 a 5,9 para requeijões com fermentação láctica e mais elevada quando por acidificação direta (5,4 a 6,2). Valores abaixo de 5,4 prejudica a estrutura, o paladar e tende a formar textura granulosa e muito firme. Valores de pH na faixa entre 5,5 a 5,7 resultam em queijos de consistência cremosa e firme (Van Dender, 2006). Valores acima de 6,2 podem resultar no decréscimo da interação proteína-proteína e no aumento da hidratação das proteínas, deixando o requeijão menos firme reduzindo a durabilidade do queijo, além de provocarem alterações no seu sabor (gosto salgado, sabor de sabão e separação de gordura), tornando a consistência pastosa (Rapacci, 1997; Lubeck, 2005; Shirashoji, et al., 2006, Van Dender, 2006).

**Tabela 2: Características físico-químicas e composição centesimal de requeijão cremoso adicionados de galactooligossacarídeo (GOS).**

Parâmetros	RC	RI	RII	RIII
pH	6,23 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,32 ± 0,08 <sup>a</sup>	6,35 ± 0,08 <sup>a</sup>	6,33 ± 0,07 <sup>a</sup>
Umidade	64,50 ± 1,14 <sup>a</sup>	64,19 ± 1,16 <sup>a</sup>	64,28 ± 1,12 <sup>a</sup>	64,25 ± 1,32 <sup>a</sup>
Extrato Seco	35,50 ± 1,22 <sup>a</sup>	35,81 ± 1,17 <sup>a</sup>	35,72 ± 1,88 <sup>a</sup>	35,75 ± 1,45 <sup>a</sup>
Proteína	15,78 ± 1,32 <sup>a</sup>	15,89 ± 1,54 <sup>a</sup>	15,85 ± 1,45 <sup>a</sup>	15,45 ± 1,11 <sup>a</sup>
Gordura	19,99 ± 1,11 <sup>a</sup>	19,89 ± 1,02 <sup>a</sup>	19,89 ± 0,34 <sup>a</sup>	19,78 ± 1,22 <sup>a</sup>
Gordura/ES	56,30 ± 1,84 <sup>a</sup>	55,54 ± 1,74 <sup>a</sup>	55,67 ± 1,14 <sup>a</sup>	55,32 ± 1,64 <sup>a</sup>
Fibras	0	0,05 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,30 ± 0,01 <sup>c</sup>

\* Análises efetuadas em duplicata. Valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras iguais na mesma linha não apresentam diferença significativa ( $P < 0,05$ ) RI, RII, RIII= ver texto.

O teor de umidade dos produtos obtidos experimentalmente encontra-se entre 64,19 e 64,50%. A umidade do produto final é um parâmetro importante, tanto sob o ponto de vista econômico, interferindo no rendimento como pela sua influência direta na textura do produto. (Van Dender, 2006). A legislação brasileira estabelece o máximo de 65% para requeijão cremoso e 60% para requeijão tradicional (Brasil, 1997). Os resultados demonstraram que em relação ao tratamento controle (RC), o galactooligossacarídeo adicionado aos tratamentos RI, RII e RIII, não interferiu significativamente ( $P < 0,05$ ) na umidade dos produtos tratados. Os resultados contrariam o esperado uma vez que a fibras solúveis como os galactooligossacarídeos poderiam ter absorvido água de forma a interferir nesse parâmetro, o que pode estar relacionado com a pequena quantidade de fibra adicionada na formulação dos requeijões. Contudo, todos os requeijões analisados se encontram dentro dos limites preconizados pela legislação.

O conteúdo médio de extrato seco das amostras variou entre 35,50 a 35,81% p/p não havendo diferença significativa entre os tratamentos. Porém os valores médios de extrato seco requerido para queijos processados untáveis como o requeijão cremoso é de 38 a 40% (Rapacci, 1997, Van Dender, 2014). A variação nos teores de extrato seco está relacionada à diferença na formulação, sendo o teor de sólidos importante pelas suas propriedades físicas,

como a consistência e a viscosidade e pelo valor nutritivo do produto. Esse parâmetro pode ser corrigido na formulação, contudo não houve diferença significativa entre os tratamentos.

Admitem-se para requeijão cremoso os teores de 9-11% de proteína, 24-27 % de gordura e de 55%- 65% de gordura no extrato seco. (ABIA, 1998, Ramos et al. 2012). Ao analisarmos os valores obtidos na tabela 2, podemos notar que não houve diferença significativa nos teores de gordura, gordura no extrato seco e proteína entre os tratamentos, porém os teores de gordura das amostras estão fora da faixa exigida, com aproximadamente 20% de gordura sendo de 24-27% a faixa estabelecida pela legislação (ABIA, 1998). Já os teores de proteína não tiveram diferença significativa entre os tratamentos, contudo os valores obtidos estão acima do exigido, estando todas as amostras com aproximadamente 15% de proteína sendo a faixa preconizada de 9-11%. Por último, os valores médios obtidos de fibras foram de 0,05 para RI, 0,08 para RII e 1,30 para RIII e ocorreram como o esperado nos requeijões com adição de GOS nas crescentes concentrações de 1,5, 3 e 4% p/p respectivamente.

É importante ressaltar que em requeijões cremosos, existe grande variabilidade entre os produtos comerciais, o que demonstra que existe uma falta de padronização das condições de processamento executadas nas indústrias (ingredientes, formulações, temperaturas, etc.).

## 6.2 Cor

Para a avaliação dos requeijões cremosos prebióticos, os parâmetros  $L^*$  (luminosidade, variando do branco ao negro),  $b^*$  (+b, amarelo) e  $C^*$  (croma) foram utilizados, pois a cor dos queijos fundidos varia do creme ao branco. Foi avaliado também o índice de brancura (WI) e o índice de amarelo (YI) dos requeijões, considerando que a adição de fibra pode alterar a cor dos produtos. Além disso, por ser feita a adição de bióxido de titânio como corante, a cor do produto pode ter sofrido alteração. Os resultados da avaliação da cor ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ , WI, YI) dos requeijões obtidos experimentalmente estão contidos na tabela 3.

Podemos observar nos resultados da tabela que o tratamento controle (RC) apresentou maior luminosidade ( $L^*$ ) comparada aos tratamentos adicionados de concentrações crescentes de galactooligossacarídeo ( $P < 0,05$ ), assim como o maior índice de brancura (WI). Em contra partida o mesmo obteve menor índice de amarelo (YI) e de ( $b^*$ ) ( $P < 0,05$ ).

**Tabela 3: Avaliação parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ , WI, YI) em requeijão cremoso prebiótico com adição de GOS.**

	RC	RI	RII	RIII
$L^*$	94,32 <sup>a</sup> ± 1,3	88,73 <sup>c</sup> ± 0,9	91,29 <sup>b</sup> ± 0,9	88,40 <sup>c</sup> ± 0,2
$b^*$	25,67 <sup>b</sup> ± 1,5	26,18 <sup>ab</sup> ± 0,7	26,27 <sup>ab</sup> ± 1,7	26,59 <sup>a</sup> ± 0,6
$C^*$	25,67 <sup>b</sup> ± 1,7	26,18 <sup>ab</sup> ± 0,8	26,27 <sup>ab</sup> ± 0,6	26,59 <sup>a</sup> ± 0,5
WI	73,67 <sup>a</sup> ± 1,8	71,49 <sup>c</sup> ± 1,1	72,32 <sup>b</sup> ± 0,4	70,98 <sup>c</sup> ± 0,4
YI	38,89 <sup>c</sup> ± 1,2	42,15 <sup>ab</sup> ± 0,2	41,11 <sup>b</sup> ± 0,6	42,97 <sup>a</sup> ± 0,3

<sup>a-h</sup> Análises efetuadas em duplicata. Valores são expressos com média ± desvio padrão. Diferentes letras na mesma linha significa diferença significativa ( $P < 0,05$ ).

De acordo com a Correção de Pearson, houve alta correlação positiva entre a luminosidade e a brancura dos tratamentos ( $L^*$  x WI:  $r = 0,991$ ), o que justifica a alta correção

negativa entre luminosidade e a cor amarela dos mesmos ( $L^* \times YI$ :  $r = -0,987$ ). Contudo o croma ( $C^*$ ) do tratamento com maior concentração de fibra apresentou maior croma significativa em relação ao tratamento controle ( $P < 0,05$ ). A croma é considerada um atributo quantitativo de cor e determina o grau de diferença de uma cor em comparação com uma cor cinzenta de mesma luminosidade. Quanto maior o  $C^*$ , maior é a intensidade da cor das amostras perceptível ao olho humano (Pathare et al., 2013). Logo, verificou-se que somente o tratamento RIII obteve uma coloração mais diferenciada e destacada em relação ao tratamento RC ( $P < 0,05$ ). Em outras palavras, os resultados sugerem que a fibra prebiótica GOS tornou os requeijões menos brancos e mais amarelos.

Essa variação da cor era prevista, uma vez que o xarope de GOS utilizado no experimento possui coloração amarelada, possivelmente intensificando a coloração amarela dos requeijões.

### 6.3 Reologia

#### 6.3.1 Curvas de Fluxo

A Figura 4 mostra as curvas típicas de escoamento em estado estacionário ( $\sigma \times \dot{\gamma}$ ) obtidas para a terceira varredura de tensão de cisalhamento das amostras de requeijão cremoso suplementados com diferentes teores de fibra. É possível observar que todas as amostras apresentaram comportamento similar, porém o controle apresentou tendência a maiores valores de tensão de cisalhamento por taxa de deformação, sendo seguido em ordem decrescente pelas amostras RIII, RII e RI. Isso indica uma possível perda de viscosidade com a incorporação das fibras.

Os dados de tensão de cisalhamento ( $\sigma$ ) em função da taxa de deformação ( $\dot{\gamma}$ ) foram ajustados ao modelo da lei da potência ( $0,9797 < R^2 < 0,9991$ ).

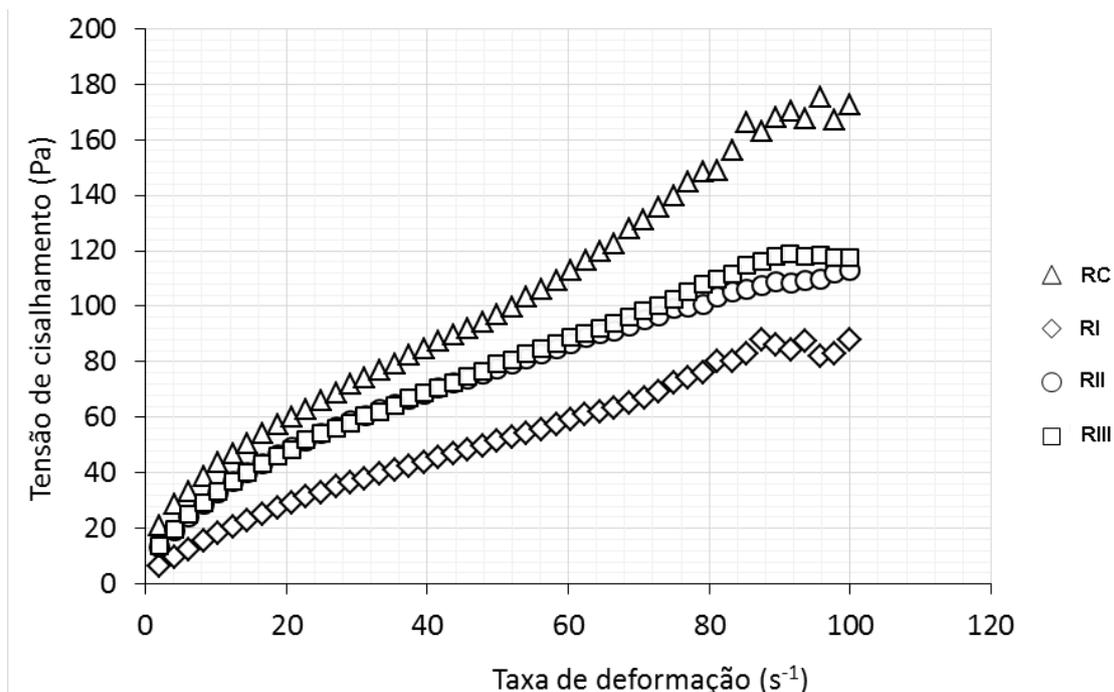


Figura 4: Curva de fluxo de escoamento em estado estacionário das amostras de requeijão.

A Tabela 4 apresenta os valores médios dos índices de comportamento e de consistência para as amostras de requeijão cremoso fabricados com diferentes concentrações

de fibra. O índice de consistência (k) está relacionado à viscosidade, que, em queijos processados, é atribuída principalmente a interações e forças de atração intermoleculares entre as partículas de proteína (Dimitreli & Thomareis, 2004). Assim, quanto mais água houver entre as partículas de proteína, maior a distância entre elas, e menor o índice de consistência (Dimitreli et al., 2005). A adição de fibras aumentou significativamente o índice de consistência para as amostras RII e RIII; contudo, a amostra RI apresentou índice de consistência bem inferior a amostra controle. Esse comportamento provavelmente se deve a capacidade de retenção de água do GOS adicionado, diminuindo a mobilidade da matriz proteica a partir de uma concentração ótima de fibras adicionadas.

**Tabela 4: Valores dos parâmetros n (índice de comportamento), k (índice de consistência) e R<sup>2</sup> (índice de determinação) obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo da lei da potência para as amostras de requeijão cremoso.**

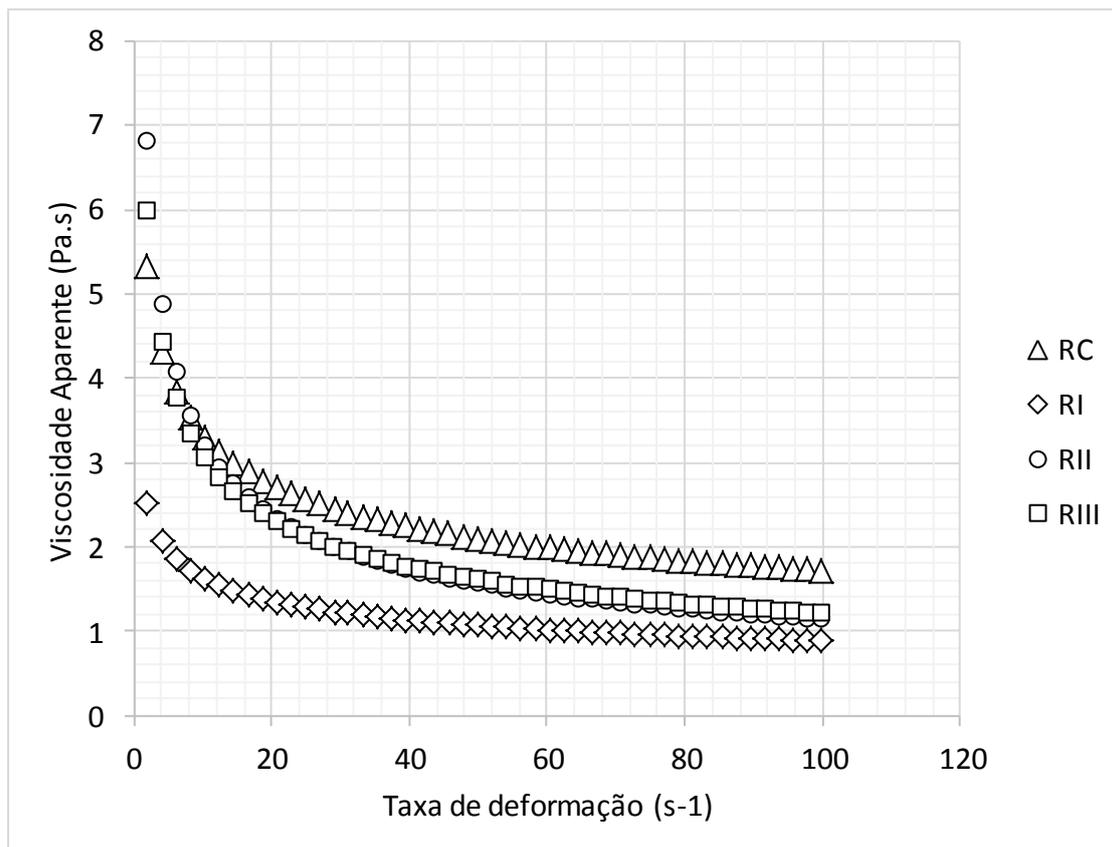
Amostras	k (Pa.s <sup>n</sup> )		N		R <sup>2</sup>
RC	6.472	± 0.551	0.712	± 0.020	0.9797
RI	2.995	± 0.185	0.736	± 0.015	0.9905
RII	9.268	± 0.120	0.546	± 0.003	0.9991
RIII	7.888	± 0.242	0.594	± 0.007	0.9960

\* Análises efetuadas em triplicata, Valores expressos como média± desvio padrão

Todas as amostras de requeijão apresentaram índices de comportamento (n) menores que 1, indicando comportamento pseudoplástico, em que a viscosidade aparente diminuiu com o aumento da taxa de deformação aplicada.

Nas amostras de requeijão esse comportamento pode estar relacionado ao fato de que as macromoléculas, como as moléculas de proteína e gordura, tendem a se orientar na direção do movimento do fluido diminuindo, portanto, a resistência ao escoamento com o aumento da taxa de deformação (Damodaran, 1997). As amostras RII e RIII apresentaram valores de n significativamente menores que as demais amostras indicando que a adição de fibras proporcionou um aumento do caráter pseudoplástico dessas amostras (Tabela 4).

De acordo com os valores de viscosidade aparente apresentados na Figura 4 é possível observar que o controle (RC) apresentou viscosidade aparente significativamente maior que todas amostras suplementadas com GOS. Contudo, a baixas frequências as amostras RII e RIII apresentaram valores levemente superiores.

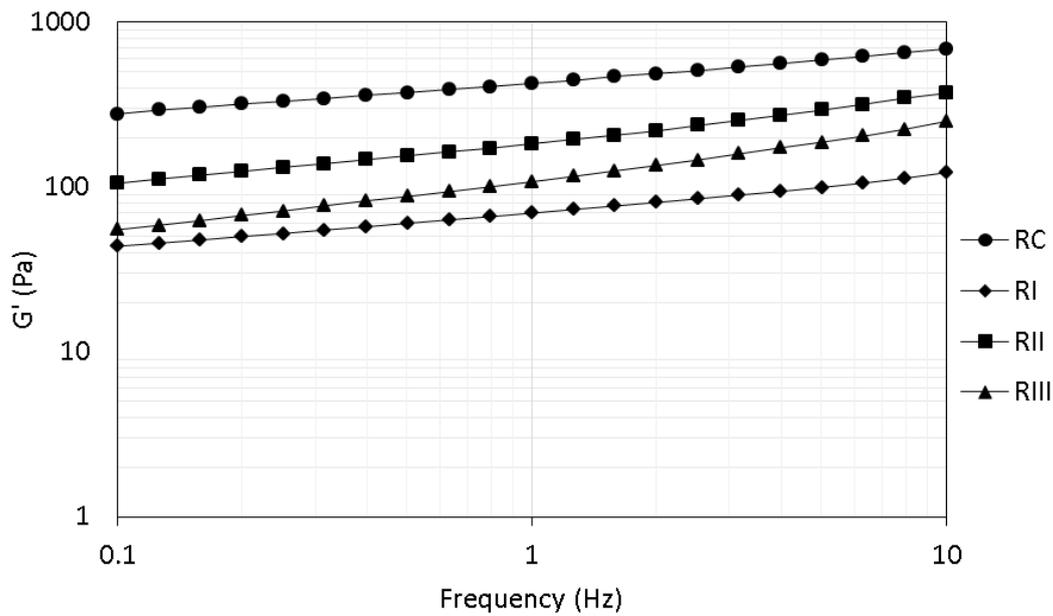


**Figura 5: Viscosidade aparente (Pa s) das amostras de requeijão cremoso suplementadas com diferentes níveis de GOS.**

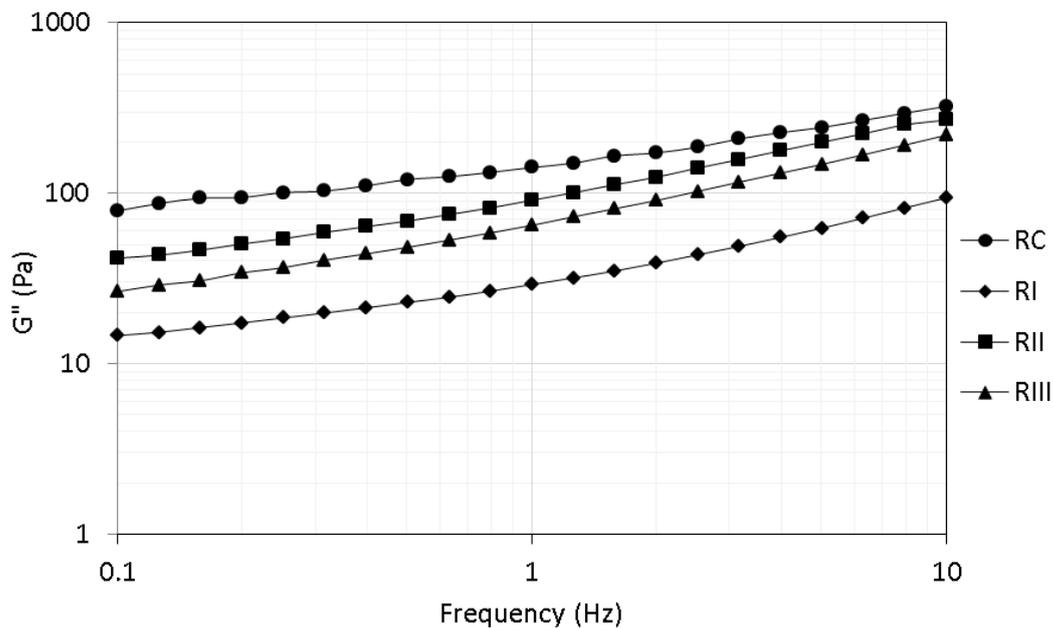
### 6.3.2 Ensaios Oscilatórios

As amostras de requeijão apresentam um comportamento viscoelástico, isto é, quando submetidas a certa deformação parte da energia mecânica fornecida é armazenada na forma elástica e parte é perdida (Lucey et al., 2003). Tais propriedades viscoelásticas podem ser determinadas por ensaios dinâmicos oscilatórios de baixa amplitude nos quais são mensurados os módulos elástico ( $G'$ ) e viscoso ( $G''$ ) (Lucey et al., 2003). O módulo elástico ( $G'$ ) é definido como sendo a medida da energia armazenada por ciclo de oscilação e pode ser usado como um índice da rigidez ou elasticidade do material (Fröhlich-Wyder et al., 2009). Já o módulo viscoso ( $G''$ ) é a medida da energia dissipada ou perdida por ciclo de oscilação (Sanchez, et al., 1996).

As Figuras 5 e 6 mostram o espectro mecânico das amostras de requeijão. É possível verificar que a amostra RC apresentou valores de  $G'$  e  $G''$  superiores as demais sendo seguida pelas amostras RII, RIII, e RI, indicando que estas amostras apresentaram valores decrescentes de propriedades elásticas e viscosas. Tais resultados estão de acordo com os apresentados na Figura 3 para curva de fluxo. Também é possível verificar que com o aumento da frequência há um aumento dos valores de  $G'$  e  $G''$  para todas as amostras. Contudo, as amostras RII e RIII apresentaram inclinação da reta levemente superior às demais amostras indicando que estas possuem propriedades reológicas mais suscetíveis à variação da frequência.



**Figura 6: Módulo elástico ( $G'$ ) das amostras de queijo.**



**Figura 7: Módulo viscoso das amostras de queijo.**

A Figura 8 apresenta a tangente do ângulo de fase ( $\tan \delta = G''/G'$ ) que indica a razão entre as propriedades viscosa ( $G''$ ) e elástica ( $G'$ ) e está relacionado ao relaxamento das ligações na matriz polimérica que é formada basicamente pelas proteínas do leite e polissacarídeos adicionados (Fröhlich-Wyder et al., 2009). Um valor alto para o ângulo de fase indica que a rede proteica é menos estruturada, com menor número de ligações, ou que as moléculas têm maior mobilidade, de modo que o produto tem maior facilidade para fluir (Cunha, 2007). No entanto, todas as amostras apresentaram valores de  $\tan \delta$  relativamente baixos, ou seja, o  $G'$  foi maior do que o  $G''$  em toda a faixa de frequência ( $G' > G''$ ). Como consequência as moléculas têm menos mobilidade, e por isso o produto apresenta característica mais de sólido que de líquido (Morris, 1984). Contudo, é possível observar um aumento de  $\tan \delta$  com a

adição de GOS, indicando uma diminuição das propriedades elásticas em relação as viscosas com a adição de fibras. Esse comportamento indica que a adição de GOS interferiu na formação da rede proteica diminuindo a força do gel. Os valores de  $\tan \delta$  tendem a aumentar com o aumento da frequência. Isso pode indicar que não houve tempo suficiente para ocorrer relaxação entre as ligações na matriz o que indica comportamento típico de um gel fraco.

Esse comportamento também pode ser corroborado pela análise da Figura 8 que apresenta o módulo complexo ( $G^*$ ) das amostras de requeijão em função da frequência. Quanto maior o valor do módulo complexo maior a firmeza das amostras. Portanto, é possível observar que as amostras mais firmes foram o controle RC seguido em ordem decrescente pelas amostras RII, RIII e RI. O parâmetro  $A_F$  do modelo de Winter & Chambon (1986) obtido via regressão não-linear seguiu o mesmo perfil gráfico apresentando maiores valores para a amostra controle seguida em ordem decrescente das amostras RII, RIII e RI. Esse comportamento indica uma diminuição da força do gel e da consistência das amostras com a adição das fibras. Os maiores valores do fator de interação ( $z$ ) foram observados para a amostra RC seguida pela amostra RI, RII e RIII. Isso indica um enfraquecimento das interações intermoleculares, tais como pontes de hidrogênio, interações hidrofóbicas entre caseína e gordura e pontes eletrostáticas de cálcio entre as moléculas de caseína devido a adição das fibras propiciando uma diminuição da força do gel e, conseqüentemente, diminuição da rigidez e consistência das amostras quando comparadas ao controle. Esse resultado difere em parte do apresentado na Tabela 4 para o índice de consistência da Lei da Potência da curva de fluxo onde a amostra RII apresentou os maiores índices de consistência seguida de RIII, RC e RI. Apesar de a amostra RII apresentar valores de  $A_F$  duas vezes menor que o controle, essa amostra foi a que apresentou consistência mais similar ao controle, o que caracteriza essa amostra como um ponto ótimo de adição de fibras, indicando um maior potencial de aceitação comercial.

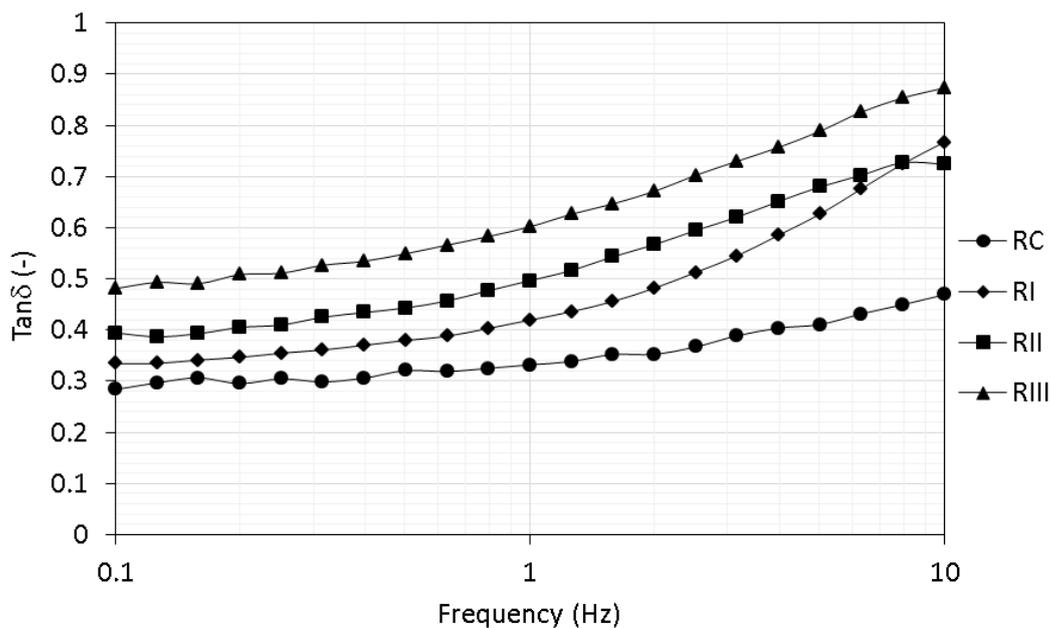


Figura 8: Tangente do ângulo de fase ( $\tan \delta$ ) das amostras de requeijão.

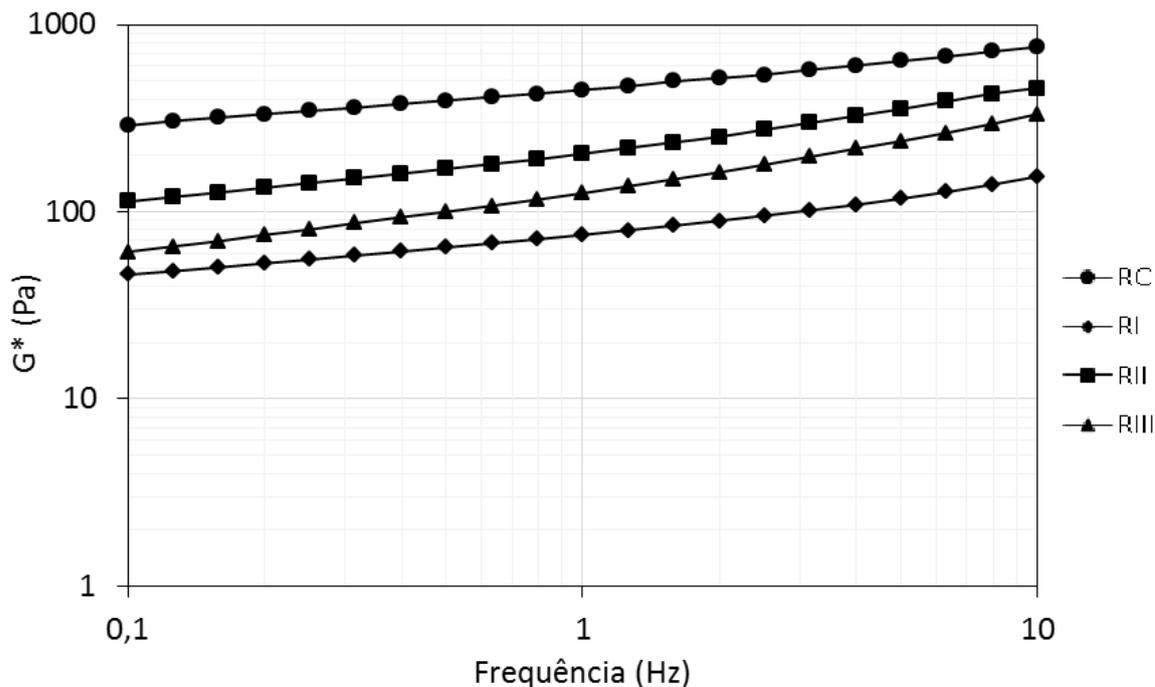


Figura 9: Módulo complexo das amostras de requeijão.

Tabela 5: Valores médios dos parâmetros  $A_F$  (força do gel),  $z$  (fator de interação) e  $R^2$  (coeficiente de determinação) obtidos a partir do ajuste dos dados experimentais ao modelo de Winter & Chambon (1986) para as amostras de requeijão.

Amostra	$A_F$ (Pa.s <sup>1/z</sup> )	$z$ (-)	$R^2$
RC	456.3 ± 2.1	4.73 ± 0.01	0.996
RI	77.5 ± 0.9	3.68 ± 0.03	0.987
RII	211.5 ± 2.3	3.08 ± 0.02	0.993
RIII	129.4 ± 1.6	2.56 ± 0.02	0.994

- Análises Efetuadas em duplicata. Valores são expressos como média ± desvio padrão

Quanto maior o teor de fibra, menor o teor de proteína, pois a fibra (carboidrato) substitui parte da proteína no extrato seco total do produto. Além disso, a fibra adicionada ao requeijão interrompe sua rede protéica, reduzindo sua firmeza. Portanto, o menor teor de fibra resulta em uma firmeza maior (Bosi, 2008).

#### 6.4 Derretimento

Através dos resultados obtidos na tabela 6, podemos observar que a adição de GOS em diferentes concentrações influenciou na capacidade de derretimento e no fluxo de queijo dos produtos probióticos quando comparados ao tratamento controle. Os requeijões RI e RIII com respectivamente 1,5 e 4,0% de GOS tiveram aumento considerável, já RII com 3,0% de GOS aumentou sua capacidade de derretimento ( $p > 0.05$ ). Sabe-se que o derretimento tende a ser maior quando a degradação da proteína aumenta (Rudan; Barbano, 1998).

**Tabela 6: Derretimento dos requeijões (cm)\***

RC	RI	RII	RIII
6,1 <sup>b</sup> ± 0,2	7,9 <sup>a</sup> ± 0,9	7,2 <sup>a</sup> ± 0,3	7,9 <sup>a</sup> ± 0,3

\*Valores expressos em centímetros. Análises efetuadas em duplicata. Valores expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha denotam diferença estatística (p<0.05)

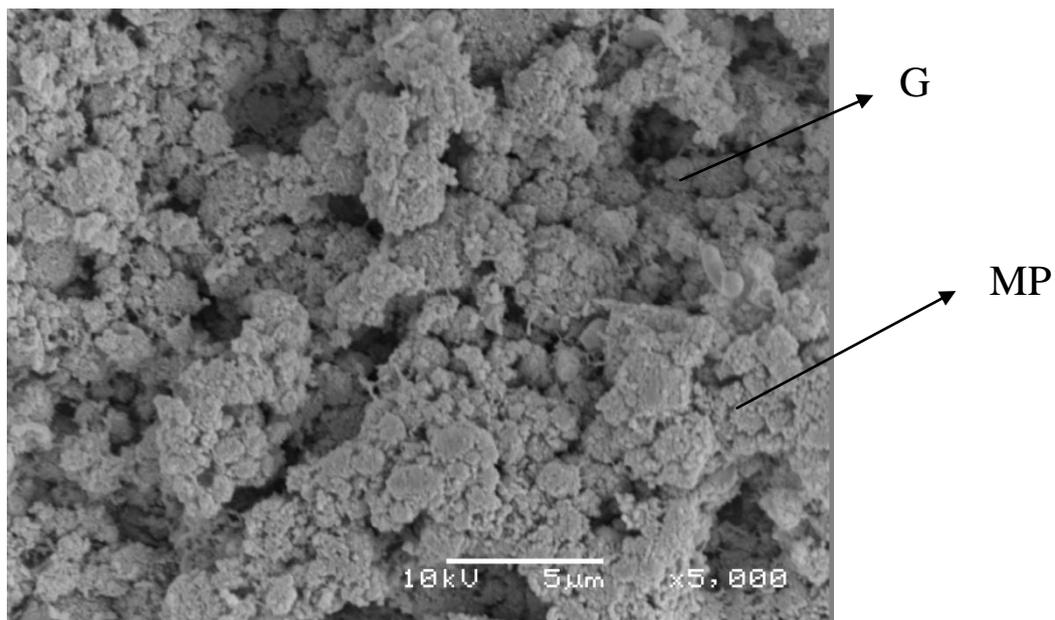
Autores afirmam que a capacidade de derretimento do queijo aumenta significativamente durante o período de armazenamento devido ao enfraquecimento da rede protéica provocado pela proteólise, principalmente da  $\alpha$ 1-caseína (Spadoti et al., 2003; Kindstedt, 1991; Yun et al., 1993a; Tunick et al., 1993).

### **6.5 Microestrutura**

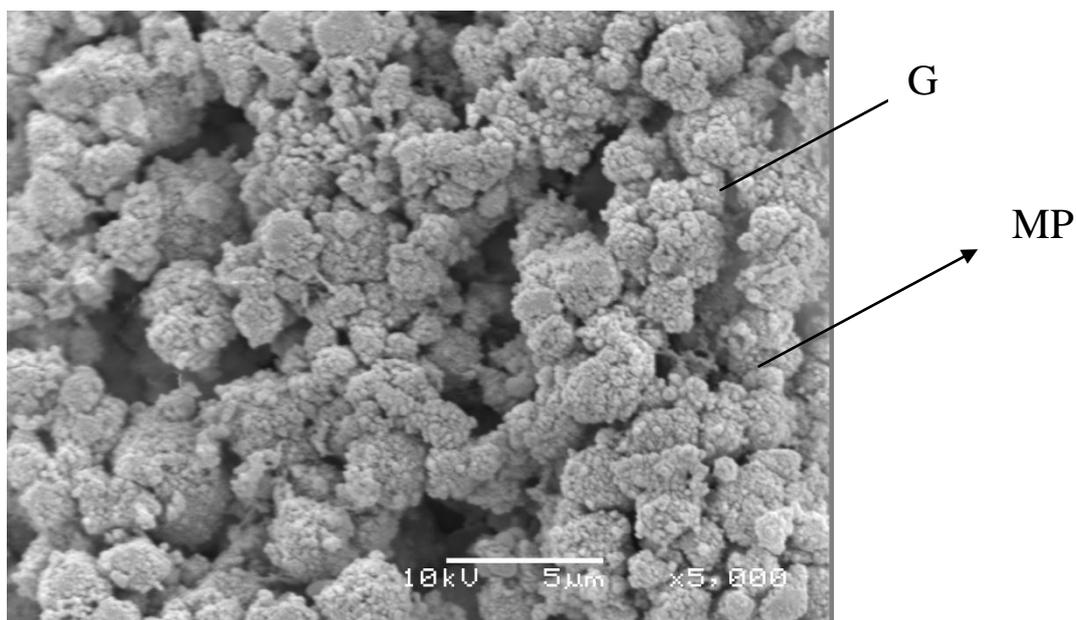
A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica valiosa na pesquisa de laticínios, pois fornece informações sobre a microestrutura de produtos lácteos, as quais estão relacionadas com as propriedades físicas (Cunha; Alcântara; Viotto, 2012; Liu; Xu; Guo, 2008).

Em função da fina microestrutura dos produtos lácteos, para se obter a resolução necessária ao emprego de SEM deve-se usar uma voltagem de 5 a 20 kv. Rayan, 1980 (apud Cohen, et al., 1981) observou as amostras de queijo processado em 20 kv e Marchesseau et al. (1997) em 15 kv. Para as amostras de requeijão cremoso avaliadas neste trabalho, a melhor resolução foi conseguida operando o microscópio em 10 kv.

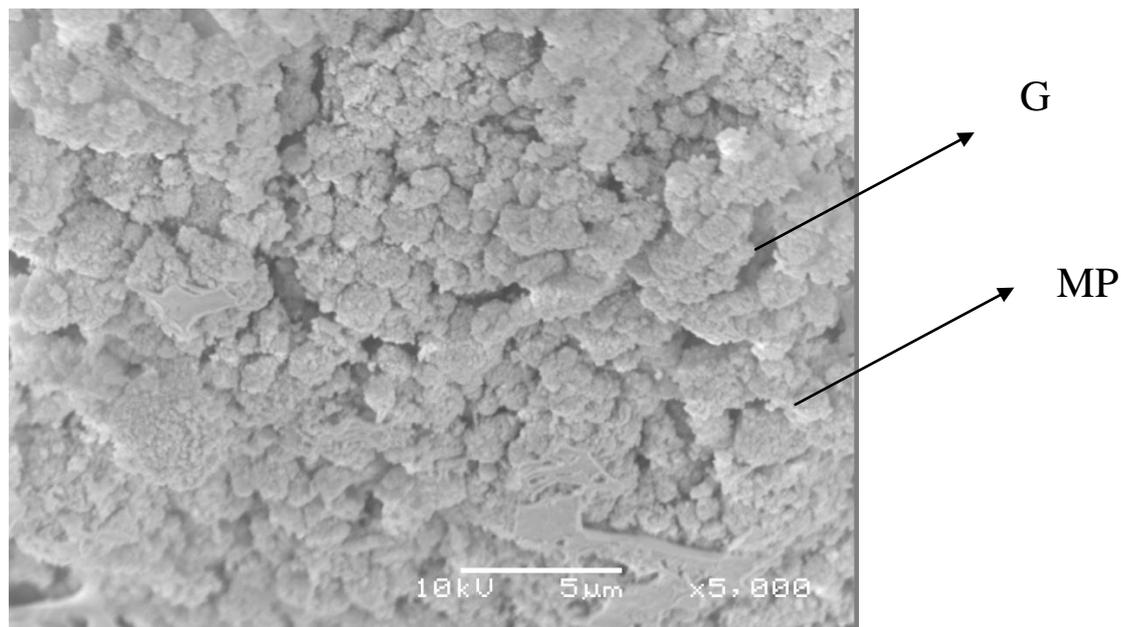
Nas Figuras 10, 11, 12 e 13 apresentam-se os resultados da aplicação da técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) em aumento de 5000 x e resolução de 10 kv para amostra de requeijão cremoso prebiótico (GOS) preparada de acordo com o método proposto neste trabalho.



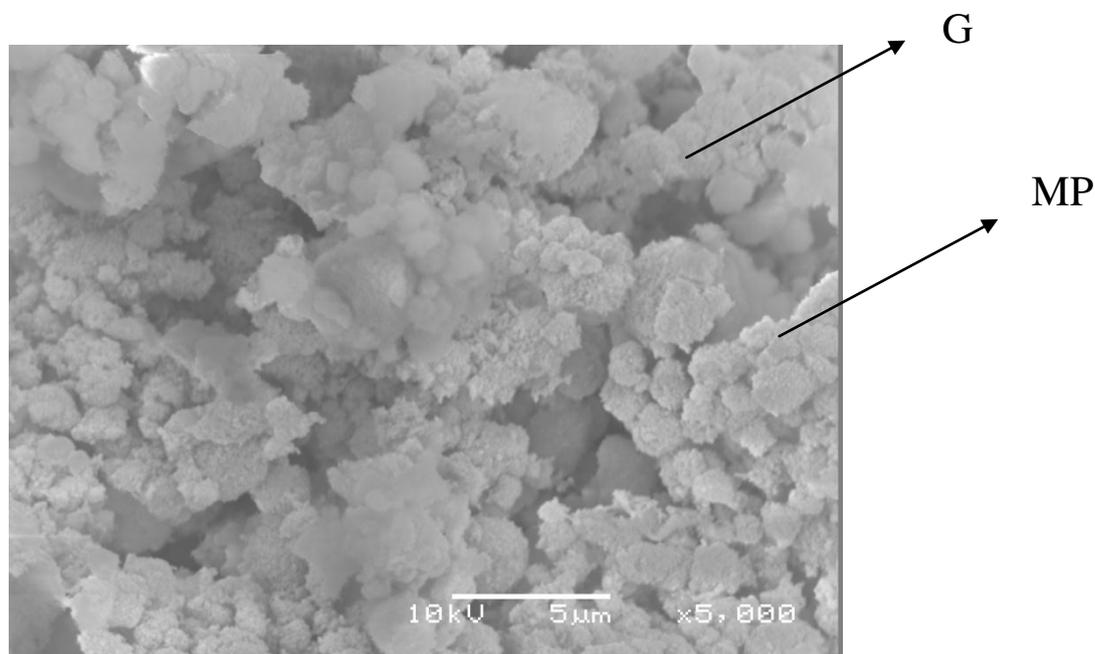
**Figura 10:** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RC) com 0% v/v de GOS. Aumento de 5000 x, 10 kv, MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura. Todas as barras equivalem a 5µm.



**Figura 11:** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RI) com 1,5% v/v de GOS. Aumento de 5000 x, 10 kv. MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.



**Figura 12:** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RII) com 3% p/v de GOS. Aumento de 5000 x, 10 kv. MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.



**Figura 13:** Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da amostra (RIII) com 4% de GOS. Aumento de 5000 x, 10 kv. MP = matriz protéica, G = espaço vazio onde se encontrava o glóbulo de gordura.

Observam-se nas imagens da microestrutura dos requeijões espaços vazios na matriz proteica indicando a presença inicial de partículas de gordura, as quais foram extraídas da amostra durante a preparação da mesma para análise. Um grande número de glóbulos de gordura é eventualmente distribuído pela matriz proteica com tamanhos e formas variáveis, produzindo uma estrutura como “esponja” ou “favo de mel” (Mistry; Anderson, Adhikari, 1993).

Ao avaliar as imagens constata-se que a amostra RII contendo 3% de galactooligossacarídeo (Figura 12) foi o que mais se diferenciou estruturalmente em relação ao requeijão RC, apresentando matriz proteica mais densa, compacta e com o número e tamanho dos glóbulos de gordura diminuídos. Sabe-se que a emulsificação reduz as dimensões das partículas de gordura, ou seja, quanto menor a dimensão dos glóbulos de gordura, maior a emulsificação. Este fato pôde ser explicado por outro estudo realizado por Montesinos-Herrero et al (2006), que avaliaram a influência na reologia e microestrutura, na substituição parcial de gordura por fibras em imitação de queijo. Observaram que aumentando a viscosidade da fase aquosa reduz-se a frequência de colisões das gotículas de gordura e estabiliza o óleo em água em queijo, podendo conduzir à redução da coalescência da gordura e conseqüentemente os glóbulos de gordura ficam menores. De acordo com Fox et al. (2000) queijos processados mais firmes e elásticos se devem à diminuição do diâmetro médio dos glóbulos de gordura e do nível de hidratação da paracaseína.

Apesar da similar composição físico-química, são observadas diferenças na textura dos requeijões prebióticos em relação ao tratamento controle, principalmente na amostra RII, as quais se devem provavelmente aos diferentes tratamentos interferindo na hidratação da paracaseína, associado também aos tratamentos térmico e mecânico, aplicados durante o processamento.

De acordo com Sandoval-Castilla et al. (2004), que estudaram a substituição de gordura por amido de tapioca em iogurte, utilizando microscopia eletrônica de varredura, observaram que as amostras sem adição de amido de tapioca, apresentaram uma rede composta por cadeias ou agregados de micelas de caseínas fundidas separadas por espaços vazios. E que, os glóbulos de gordura estariam inseridos nesta rede de proteína. Sendo que para as formulações adicionadas de amido de tapioca, as microestruturas apresentaram-se com muitos espaços vazios, mas menores se comparados com aquelas sem amido de tapioca, exibindo maior firmeza pela ação do amido em orientar as moléculas de água aumentando a viscosidade da fase contínua (Sandoval-Castilla et al. 2004).

## 6.5 Análise Sensorial

A análise sensorial é uma avaliação importante para ter conhecimento quanto à aceitação dos requeijões prebióticos por parte dos consumidores em potencial. Essa análise teve como finalidade identificar possíveis diferenças significativas entre as amostras em relação à aparência, aroma, textura, sabor e impressão global (Tabela 7).

**Tabela 7: Análise Sensorial dos Requeijões Prebióticos**

Amostras	Aparência	Aroma	Sabor	Textura	Impressão Global
RC	7.1 <sup>a</sup> (0.6)	6.1 <sup>b</sup> (1.2)	6.8 <sup>b</sup> (0.6)	6.7 <sup>a</sup> (0.8)	7.0 <sup>a</sup> (0.8)
RI	7.2 <sup>a</sup> (1.1)	6.3 <sup>b</sup> (1.7)	7.1 <sup>b</sup> (1.4)	6.5 <sup>a</sup> (0.2)	7.2 <sup>b</sup> (1.4)
RII	7.3 <sup>a</sup> (0.8)	7.7 <sup>a</sup> (1.6)	8.3 <sup>a</sup> (0.7)	6.9 <sup>a</sup> (1.1)	7.7 <sup>a</sup> (0.3)
RIII	7.8 <sup>b</sup> (0.4)	7.6 <sup>a</sup> (1.3)	8.5 <sup>a</sup> (0.9)	7.1 <sup>a</sup> (1.2)	7.8 <sup>a</sup> (1.4)

\* Valores são médias com desvio padrão entre parênteses, com 90 consumidores usando escala hedônica de 9 pontos (1 = desgostei extremamente; 5 = não gostei nem desgostei; 9 = gostei extremamente). Letras iguais na mesma coluna não representa diferença estatística (p < 0,05)

Através dos resultados apresentados na tabela 7, nota-se que as amostras contendo concentrações crescentes de GOS destacaram-se satisfatoriamente na avaliação quando comparados ao requeijão controle (RC). No atributo aparência RIII obteve média superior às das outras amostras. Já nos parâmetros de avaliação, aroma, sabor, RII e RIII obtiveram médias maiores, com diferença significativa. Nas médias de impressão global RC, RII e RIII obtiveram melhores resultados, já no atributo de textura não houve diferença estatística entre as médias. Ainda sugerem que a adição de GOS ao requeijão melhorou sensorialmente o produto em quase todos os atributos avaliados, e não gerando diferenças significativas à percepção dos avaliadores na textura dos produtos tratados, embora os resultados da análise reológica tenham sido diferentes significativamente. A maior diferença entre as médias foi no atributo sabor, no qual RIII se destacou positivamente com média de 8,5 enquanto o requeijão controle (RC) apresentou média de 6,8, o que sugere que a adição de GOS proporcionou sabor e textura diferenciados e apreciados pelos avaliadores.

Considerando que aproximadamente 80% dos julgamentos foram feitos por jovens de faixa etária entre 15 e 30 anos, faixa esta que mais consome requeijão, os requeijões tratados com GOS receberam médias satisfatórias em todos os atributos avaliados. Desta forma podemos afirmar que os produtos foram bem aceitos.

## 7 CONCLUSÕES

A elaboração de requeijão prebiótico a partir do uso de Galactooligossacarídeo (GOS) não proporcionou variações na composição físico-química mantendo todas as amostras dentro dos limites estabelecidos pela legislação e padrão de identidade de requeijão cremoso.

Os requeijões com GOS apresentaram uma matriz proteica mais uniforme e menos porosa, havendo maior interação das proteínas e aumento de viscosidade das amostras observadas através das análises reológicas, o que permitiu a classificação das amostras como fluidos pseudoplásticos, sendo que aquelas elaboradas com galactooligossacarídeo apresentaram maior pseudoplasticidade e consistência que a formulação controle (RC).

Por sua vez os requeijões elaborados com proporções mais elevadas de GOS obtiveram resultados melhores em todos os atributos na análise sensorial, mostrando potencial opção de alimento funcional para a comercialização.

## 8 Referências Bibliográficas

AACHARY, A. A.; PRAPULLA, S. G. Xylooligosaccharides (XOS) as an emerging prebiotic: microbial synthesis, utilization, structural characterization, bioactive properties and applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v.10, p.2-16, 2011.

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijos. **Evolução do Mercado Brasileiro de Queijos de 2000 a 2013**. Disponível em: <http://www.abiq.com.br>. Acesso em: Outubro de 2014.

ADHIKARI, A. K. Microstructure and texture of Khoa and Gulabjamun made from cows' milk: heat-induced changes during processing and frying. *Journal Science Food Agriculture*. v. 61. p. 7-15. 1993.

AL-SHERAJI, S. H.; ISMAIL, A.; MANAP, M. Y.; MUSTAFA, S.; YUSOF, R. M.; HASSAN, F. A. Prebiotics as functional foods: A review. *Journal of Functional Foods*, v.5, p. 1542-1553, 2013.

ANTUNES, A.E.C.; MARASCA, E.T.G.; MORENO, I.; DOURADO, F.M.; RODRIGUES, L.G.; LERAYER, A.L.S.; Desenvolvimento de buttermilk probiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, V. 27, p. 83-90, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS ALIMENTARES (ABIA). *Compêndio de Legislação de Alimentos: consolidação das normas e padrões de alimentos*. São Paulo: ABIA, 1998. 47 p.

BALDISSERA, A.C; BETTA, F.D; PENNA, A.L.B; LINDNER, J.D.D. Alimentos funcionais: Uma nova fronteira para desenvolvimento de bebidas protéicas a base de soro de leite. **Ciências Agrárias**, v.32, p.1497-1512, 2011.

BALTHAZAR, C.F.,SILVA, H.L.A.,CELEGUINI, R.M.S.,SANTOS, R.,PASTORE, G.M.,JUNIOR, C. A. CONTE,FREITAS, M.Q.,NOGUEIRA, L.C.,SILVA, M.C.,CRUZ, A.G. Effect of galactooligosaccharide addition on the physical, optical, and sensory acceptance of vanilla ice cream **Journal of Dairy Science** **98-7 4266-4272**.

BERGER W, KLOSTERMEYER H, MERKENICH K, UHLMANN G. 1989. *Processed Cheese Manufacture: A Joha Guide*. Ladenburg, Germany: Bk Ladenburg. 238 P.

BIGLIARDI, B.; GALATI, F. Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. **Trends in Food Science & Technology**, v.31, p. 118-129, 2013.

BOGENRIEF, D.D., OLSON, N.F. 1995. Hydrolysis of  $\beta$ -casein increases Cheddar cheese meltability, **Milchwissenschaft**, 50, 678-682.

BOSI, M. G. Desenvolvimento de processo de fabricação de requeijão light e de requeijão sem adição de gordura com fibra alimentar. 2008. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2008

BRASIL Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Leite e Produtos Lácteos. *Portaria n. 359. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Requeijão Cremoso ou Requesón*. Brasília, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.16, de 30 de Abril de 1999, aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimentos ou novos ingredientes. Brasília, 1999a

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.17, de 30 de Abril de 1999, Aprova o regulamento técnico que estabelece diretrizes básicas para avaliação de risco e segurança dos alimentos. Brasília 1999b

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.18, de 30 de Abril de 1999, Aprova o regulamento técnico que estabelece diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e/ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos. Brasília. 1999c

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.19, de 30 de Abril de 1999, Aprova o regulamento técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e/ou de saúde em sua rotulagem. Brasília. 1999d

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Instrução Normativa nº 68, de 12 de dezembro de 2006. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais Físico- Químicos para Controle de Leite e Produtos Lácteos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 14 dez. 2006.

BROWNAWELL, A.M.; CAERS, W.; GIBSON, G.R.; KENDALL, C.W.C.; LEWIS, K.D.; RINGEL, Y.; SLAVIN, J.L. Prebiotics and the health benefits of fiber: Current regulatory status, future research, and goals. **Journal of Nutrition**, v.142, p.1–13, 2012.

CERNÍKOVÁ, M.; BUNKA, F.; POSPIECH, M.; TREMLOVÁ, B.; HLADKÁ, K.; PAVLÍNEK, V.; BREZINA, P. Replacement of traditional emulsifying salts by selected hydrocolloids in processed cheese production. **International Dairy Journal**, v.20, p.336-343, 2010.

COHEN, S. H.; DAVIS, E. A.; HOLCOMB, D. N.; KALAB, M. Studies of food microstructure. Scanning Electron Microscopy, Inc. AMF O'Hare. 1981.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). 2014. Disponível em: : [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_04\\_10\\_08\\_47\\_02\\_leite\\_marco\\_2014.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_04_10_08_47_02_leite_marco_2014.pdf) acesso em 20 de agosto de 2014.

CRUZ, A. G.; CADENA, R.S.; FARIA, J. A. F.; OLIVEIRA, C. A. F.; CAVALCANTE, R. N.; BONA, E.; BOLINI, H. M. A.; SILVA, M. A. A. P. Consumer acceptability and purchase intent of probiotic yoghurt with added glucose oxidase using sensometrics, artificial neural networks and logistic regression. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 549-556, 2011.

CUMMINGS, J.H.; MACFARLANE, G.T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. **Journal of Applied Bacteriology**, v.70, p. 443–459, 1991.

CUNHA, C. R. Papel Da Gordura E Do Sal Emulsificante Em Análogos De Requeijão Cremoso. 2007. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.

CUNHA, C. R.; ALCÂNTARA, M. R.; VIOTTO, W.H. Effect of the type of emulsifying salt on microstructure and rheological properties of “requeijão cremoso” processed cheese spreads. **Journal of Food Science**, v. 77, p. E176-E181, 2012.

CUNHA, C. R.; DIAS, A.I.; VIOTTO, W H. 2010 Microstructure, texture, colour and sensory evaluation of a spreadable processed cheese analogue made with vegetable fat. **Food Research International** 43 (2010) 723–729.

DAMODARAN, S. Food proteins: An overview. In: DAMODARAN, S.; PARAF, A. **Food proteins and their applications**. New York, Basel, Hong Kong: Marcel Dekker, Inc., 1997. pp. 1-24.

DEFILLIPPO, F.C.; CAVALLIERI, D.; DI, P.M.; RAMAZZOTTI, M.; POULIET, J.B.; MASSART, S.; COLLINI, S.; PIERACCINI, G.; LIONETTI, P. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2010**, *107*, 14691–14696.

DIMITRELI G, THOMAREIS AS, SMITH PG. 2005. Effect of emulsifying salts on casein peptization and apparent viscosity of processed cheese. *Int J Food Engr* 1(4):1–15.

DIMITRELI, G.; THOMAREIS, A.S. Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, v.79, p. 1364-1373, 2007.

DRUNKLER, D. A., ISHIHARA, R.Y., GRAFF, A.I., DALCIN, D., FARINA, L.O., KASKANTIS NETO, G. Padronização da metodologia de adição de probióticos em requeijão cremoso. **Higiene Alimentar**, v. 23, p. 524-525, **2009**.

EUROMONITOR, I. **Health and wellness: Global performance in 2014**. Disponível em:<http://blog.euromonitor.com/2014/09/health-and-wellness-global-performance-in-2014.html#more>. Acesso em: Outubro de 2014.

FAI, C., PASTORE, A.E.M. Galactooligosaccharides: production, health benefits, application to foods and perspectives **Scientia Agropecuaria** 6- 68-81-2015

FERNANDES, A. G. DO VALE, J.L.E.; CAMPOS, S.D.S.; MORI, E.E.M. Formulação de sias emulsificantes para a elaboração de requeijão cremoso e outros tipos de queijos fundidos: parte II. **Revista do Instituto de Laticínio “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, V.40, n.238, p.27-39, 1985.

FOOD AND DRUGS ADMINISTRATION, CFR - Code of Federal Regulations, Title 21, Part 133 Cheeses and related cheese products. US Department of health & human services. 2008.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. Cheese Rheology and texture. *Fundamentals os Cheese Science*. **Gaithersburg**, Maryland: Aspen Publishers, Inc., 2000. p.305-304.

FRANCK, A.; COUSSEMENT, P. Multi-functional inulin. **Food Ingredients and Analysis International**, p. 8-10, 1997.

FROHLICH-WYDER MT, GUGGISBERG D, WECHSLER D. 2009. Influence of low calcium and low pH on melting characteristics of model Raclette cheese. *Dairy Science & Technology* 89(5):463-483.

FURTADO, M.M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo: Ed.Globo., 297p, 1991.

GAINO, V. O.; VOLTARELLI, V. P.; RENSIS, C. M. V. B.; VIANNA, P. C. B. Requeijão cremoso probiótico: avaliação da viabilidade de *Lactobacillus casei*, da composição físico-

química e aceitação sensorial. **Semina Ciências Agrárias**, v. 33, suplemento 2, p. 3133-3142, 2012.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebióticos. **Journal of Nutrition**, v. 125, p. 1401-1412, 1995.

GIBSON, G.R.; SCOTT, K.P.; RASTALL, R.A.; TUOHY, K.M.; HOTCHKISS, A.; DUBERT-FERRANDON, A.; GAREAU, M.; MURPHY, E.F.; SAULNIER, D.; LOH, G. Dietary prebiotics: Current status and new definition. **Food Science and Technology**, v.7, p.1-19, 2010.

HLADKÁ, K.; RANDULOVÁ, Z.; TREMLOVÁ, B.; PONIZIL, P.; MANCÍK, P.; CERNÍKOVÁ, M.; BUNKA, F. The effect of cheese maturity on selected properties of processed cheese without traditional emulsifying agents. **LWT – Food Science and Technology**, v.55, p. 650-656, 2014.

HORWITZ, W. (Ed.). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed., Gaithersburg, Maryland: AOAC, cap. 50, met. 985.35 e 984.27, p. 15-18, 2005.

ISHIKAWA, H.; AKEDO, I.; OTANI, T.; SUZUKI, T.; NAKAMURA, T.; TAKEYAMA, I.; ISHIGURO, S.; MIYAOKA, E.; SOBUE, T. & KAKIZOE, T. (2005). Randomized trial of dietary fiber and *Lactobacillus casei* administration for prevention for prevention of colorectal tumors. **International Journal of Cancer**. v.116, p. 762- 767, 2005

JOHNSON, M. E.; KAPOOR, R.; MCMAHON, D. J.; MCCOY, D. R.; NARASIMMON, R. G. Reduction of sodium and fat levels in natural and processed chesses: Scientific and technological aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.8, p252-268, 2009.

KHAN, R. S.; GRIGOR, J.; WINGER, R.; WIN, A. Functional food product development – Opportunities and challenges for food manufacturers. **Trends in Food Science & Technology**, v.30, p.27-37, 2013.

KINDSTEDT, P.S.. Functional properties of Mozzarella cheese on pizza: A review. **Cultured Dairy Products Journal**, v.26, p. 27-31, 1991.

KOTHARI, D., S. PATEL, AND A. GOYAL. 2014. Therapeutic spectrum of nondigestible oligosaccharides: overview of current state and prospect. *J. Food Sci.* 79:R1491–1498.

KOTILAINEN, L.; RAJALAHTI, R.; RAGASA, C.; PEHU, E. **Health enhancing foods: opportunities for strengthening the sector in developing countries**. Discussion paper 30. Washington, DC: Word Bank, 2006.

LEE SK, ANEMA S, KLOSTERMEYERH.. The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. **International Journal of Food Science and Technology**, v.39, p.763–71, 2004.

LI, Z.; XIAO, M.; LU, L.; LI, Y. 2008. Production of nonmonosaccharide and high purity galactooligosaccharides by immobilized enzyme catalysis and fermentation with immobilized yeast cells. **Process Biochemistry** 43: 896-899.

LIU, H.; XU, X. M.; GUO, S. D. Comparison of full-fat and low-fat cheese analogues with or without pectin gel through microstructure, texture, rheology, thermal and sensory analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, v.43, p.1581-1592, 2008.

LUBECK, G. M. Estudo da fabricação de requeijão cremoso com diferentes concentrações de gordura no extrato seco, sal emulsificante e concentrado proteico de soro obtido por ultrafiltração. Tese (doutorado em Tecnologia de Alimentos)- Departamento de alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 2005. 321p.

LUCEY, J.A.; JOHNSON, M.E.; HORNE, D.S. Invited review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.2725-2743, 2003.

MACKŮ, I., F. BUŇKA, B. VOLDÁNOVÁ, AND V. PAVLÍNEK. Effect of addition of selected cosolutes on viscoelastic properties of model processed cheese containing pectin. **Food Hydrocolloids** v.23, p.2078–2084, 2009

MARTINS, A. R. e BURKERT, C. A. V. Revisão: Galacto-oligossacarídeos (GOS) e seus efeitos prebióticos e bifidogênicos **Brazilian Journal of Food Technology**., v. 12, n. 3, p. 230-240, 2009

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**. Boca Raton: CRC Press. 2007. 218 p.

MENRAD, K. Innovations in the food industry in Germany. **Research Policy**, v.33, p.845-878, 2004.

MILKPOINT. **As grandes oportunidades de mercado de queijos no Brasil**. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/industria/radar-tecnico/mercado/as-grandes-oportunidades-do-mercado-de-queijos-no-brasil-93301n.aspx>

MILKPOINT. **Relatório mostra tendências globais no mercado de queijos**. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/cadeia-do-leite/giro-lacteo/relatorio-mostra-tendencias-globais-no-mercado-de-queijos-89764n.aspx>. Postado em 30/06/2014. Acesso em: Outubro de 2014.

MIREMADI, F.; SHAH, N. P. Applications of inulin and probiotics in health and nutrition. **International Food Research Journal**, v. 19, p. 1337-1350, 2012.

MISTRY V. V., ANDERSON, D. L. Composition and microstructure of commercial full-fat and low-fat cheeses. **Food Structure**, v. 12. p. 259-266. 1993.

MISTRY, V. V. Low fat cheese technology. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 413-422, 2001.

MITSUOKA, T. Development of functional food. **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, v. 33, p.117-128, 2014.

MONTESINOS-HERRERO, C., COTTELL, D. C., O'RIORDAN, E. D., O'SULLIVAN, M. Partial replacement of fat by functional fibre in imitation cheese: Effects on rheology and microstructure. **International Dairy Journal**, v.16, p, 910-919., 2006.

OLIVEIRA, A.J.; CARUSO, J.G.B. **Leite**: obtenção e qualidade do produto fluido e derivados. v. 2. Piracicaba: FEALQ., 80p. 1996.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: fundamentos tecnológicos**. Campinas:Ed. Icone, 1986. 146p.

OTIENO, D.O. 2010. Synthesis of  $\beta$ -galactooligosaccharides from lactose using microbial  $\beta$ -galactosidases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9: 471-482.

PASTORINO, A. J.; HANSEN, C. L.; McMAHON, D. J. Effect of salt on structure-function relationships of cheese. **Journal of Dairy Science**, v.86, p.60-69, 2003.

PATHARE, P. B., U. L. OPARA, AND F. AL-J. AL SAID. Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A review. **Food Bioprocess. Technology**, v.6, p.36–60, 2013.

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Química. Nova**, v.27, p.293-300, 2004.

RAMOS, F.M., HADDAD, F.F., RAMOS, R.A., PINTO, S.M. Adequacy of creamy requeijão cheese to the Standards of identity and quality and the labeling Standards. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 389, p.5-14, 2012.

RAO, M.A. Rheological behavior of precessed fluid and semisolid foods. In M.A, Rao (Ed), *Rheology of fluif and semisolid foods: principles and applications*. (Chapter 3 and 5, pp. 105-108, 244-254, 1999.

RAPACCI, M. Estudo comparativo das características físicas e químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremoso obtido por fermentação láctica e acidificação direta. **Tese de doutorado**, UNICAMP, Campinas, 1997.

RAPACCI, M. Estudo comparativo das características físicas, químicas, reológicas e sensoriais do requeijão cremosos obtido por fermentação láctica e acidificação direta. 1997. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos). Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

RAYAN, A., KALÀB,M., ERNSTROM,C.A,1980, Microstructure and rheology of process cheese, *Scanning Electron Microsc.* 1980; III: 635.

ROSA, C. de O. B.; COSTA, N. M. B. Alimentos Funcionais: Histórico, Conceitos e Atributos. In: **Alimentos Funcionais – Componentes Bioativos e Efeitos Fisiológicos**. Rio de Janeiro: Editora Rubio, 2010, 535p.

RODRIGUEZ-COLINAS, B., FERNANDEZ-ARROJO, L., BALLESTEROS, AO., PLOU, FJ. Galactooligosaccharides formation during enzymatic hydrolysis of lactose: towards a prebiotic enriched milk. **Food Chemistry**, v.145, p.388–394, 2014.

RUDAN, M.A.; BARBANO, D.M. A model of Mozzarella cheese melting and browning during pizza baking. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n.8, p. 2312-2319, 1998.

SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, vol. 42, p. 1-16, 2006.

SAINT-EVE, A.; LAUVERJAT, C.; MAGNAN, C.; DÉLÉRIS, I.; SOUCHON, I. Reducing salt and fat content: Impact of composition, texture and cognitive interactions on the perception of flavoured model cheeses. **Food Chemistry**, v.116, p.167-175. 2009.

SAKO, T.; MATSUMOTO, K.; TANAKA, R. Recent progress on research and applications of non-digestible galactooligosaccharides. **International Dairy Journal**, v. 9, p. 69-80, 1999.

SANDERS, M.E.; MARCO, M.L. Food Formats for Effective Delivery of Probiotics. **Food and Science Technology**, v.1, p. 65-85, 2010.

SANDOVAL-CASTILLA, O., C. LOBATO-CALLEROS, E. AGUIRRE-MANDUJANO, E.J. VERNON-CARTER. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. **International Dairy Journal**, v. 14, p. 151-159, 2004.

SANTOS, R. B.; BARBOSA, L. P. L.; BARBOSA, F. H. F. Probióticos: micrororganismo funcionais. **Ciência Equatorial**, Amapá, V. 1, p. 26-38, 2008.

SHIRASHOJI N, JAEGGI JJ, LUCEY JA. 2006. Effect of trisodium citrate concentration and cooking time on the physicochemical properties of pasteurized process cheese. **J Dairy Sci** 89:15–28.

SILVA, C. A. B, FERNANDES, A.R. Projetos de empreendimentos agroindustriais: produtos de origem animal. Viçosa: UFV. 2003. v.1 308p.

SIRÓ, I.; KÁPOLNA, E.; KÁPOLNA, B.; LUGASI, A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – A review. **Appetite**, v. 51, p.456-467, 2008.

SLOAN, A. E. The top ten functional food trends. **Food Technology**, v.54, p.33-62, 2000.

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F.; PETENATE, A. J.; ROIG, S. M. Avaliação do rendimento do queijo tipo Prato por modificações no processo tradicional de fabricação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 3, p. 429-499, 2003.

SPENCE, J. T. Challenges related to the composition of functional foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, s4-s6, 2006.

SPREER, E. **Lactologia industrial**. 2 ed. Zagarosa: Acribia,. 617p. 1991.

TUNICK, M.H., MACKKEY, K.L., SHIEH, J.J., SMITH, P.W., COOKE, P. AND MALIN, E.L. Rheology and microstructure of low-fat Mozzarella cheese. **International Dairy Journal**, v.3, p. 649-662, 1993.

VAN DENDER, A. G. F. Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado. São Paulo: Fonte Setembro editora , 2014.

VAN DENDER, A. G. F. Requeijão: aspectos gerais. IN: VAN DENDER, A. G. F. Requeijão cremoso e outros queijos fundidos: tecnologia de fabricação, controle do processo e aspectos de mercado. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora Ltda, 2006.

VAN DENDER, A. G., SPADOTI, L.M., ZACARCHENCO, P.B., GALINA, D.A. & ALVES, A.T.S. Requeijão cremoso: pesquisas e inovações tecnológicas do século XXI. **Leite & Derivados**, v. 133, p. 86-97, 2012.

VEIGA, PG., CUNHA, RL., VIOTTO, WH., PETENATE, AJ. Caracterização química, reológica e aceitação sensorial do queijo petit suisse brasileiro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, p. 349-357. 2000

VIEIRA, S. **Análise de variância (ANOVA)**. São Paulo: Atlas, 204p. 2006.

WINTER, H. H., AND F. CHAMBON. Analysis of linear viscoelasticity of a crosslinking polymer at the gel point. **Journal of Rheology**, v.30, p.367–382, 1986.

YUN, J.J BARBANO, D.M., KINDSTEDT, P.S. Mozzarella cheese: impact of cooking temperature on chemical composition, proteolysis, and functional properties. **Journal of Dairy Science**, v.76, 3664 - 3673, 1993.